COMMONWEALTH INST.
ENTOMOLOGY LIBRARY
2 FEB 1961
Ent 86

TIJDSCHRIFT OVER PLANTEZIEKTEN

JAARGANG 66 - 1960

6e AFLEVERING

Uitgave van de

NEDERLANDSE PLANTEZIEKTENKUNDIGE VERENIGING

Onder redactie van

Dr. J. A. VON ARX, Mej. H. L. G. DE BRUYN,
Dr. J. A. A. M. H. GOOSSENS†, Prof. Dr. A. J. P. OORT, Mevr. Ir. M. POST-BAKKER
Prof. Dr. J. P. H. VAN DER WANT en Dr. H. H. EVENHUIS (Secretaris)

Redactie-adres: Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek,
Binnenhaven 4*a*, Wageningen

BESTUUR

VAN DE NEDERLANDSE PLANTEZIEKTENKUNDIGE VERENIGING

Dr. P. M. L. Tammes, Wageningen, *Voorzitter*
Ir. J. A. J. Veenenbos, Plantenziektenkundige Dienst, Wageningen, *Secretaris*
Dr. A. P. Kole, Lab. v. Fytopathologie, Binnenhaven 4, Wageningen, *1e Penningmeester*
Postrekening no. 92 31 65 ten name van Penningmeester van de Nederlandse Plantenziektenkundige Vereniging te Wageningen
Mevr. Ir. M. Post-Bakker, Lawickse Allee 80, Wageningen, *2e Penningmeesteresse*
Ir. H. J. de Bruin, Wageningen
H. P. Dijksterhuis, Garrelsweer
Dr. J. C. s' Jacob, Wageningen
Ir. J. Walrave, Wageningen
Prof. Dr. J. P. H. van der Want, Lisse

Lidmaatschap Ned. Planteziektenkundige Vereniging

Nederland, Suriname en de Nederlandse Antillen f 7,50, België f 7,50, Buitenland f 8,50. Leden ontvangen het tijdschrift gratis.

Opzegging van het lidmaatschap moet vóór 1 december van het lopende jaar geschieden, anders is de contributie voor het volgende jaar verschuldigd.

Abonnement Tijdschrift

Nederland, Suriname en de Nederlandse Antillen f 10,—, België f 10,—, Buitenland f 13,50. Betaling op postrekening no. 92 31 65 t.n.v. Penningmeester Ned. Planteziektenkundige Vereniging te Wageningen.

Advertentiën

Prijzen per plaatsing: ⅛ pag. f 12,50; ¼ pag. f 20,—; ½ pag. f 30,—; 1 pag. f 55,—.
Bij 3 maal plaatsen van dezelfde advertentie 10 procent korting.
Bij 6 maal plaatsen van dezelfde advertentie 20 procent korting.

Voor plaatsing wende men zich tot de secretaris der Redactie-Commissie, p.a. Binnenhaven 4*a*, Wageningen, tel. 2151, of tot H. Veenman & Zonen N.V., Wageningen, tel. 2242.

INHOUD Blz.

IN MEMORIAM Prof. Dr. T. H. THUNG 305
IN MEMORIAM Dr. Ir. J. A. A. M. H. GOOSSENS 313

HOOFDARTIKELEN

G. P. TERMOHLEN – De fysiologische specialisatie van *Cladosporium fulvum* en het kweken van tegen de bladvlekkenziekte resistente tomaterassen. *With a summary: Physiologic specialisation of* Cladosporium fulvum *and the breeding for resistence in tomatoes* 314
L. BOS, D. J. HAGEDORN and L. QUANTZ – Suggested procedures for international identification of legume viruses. *Mit einer Zusammenfassung: Vorgeschlagene Verfahren zur internationalen Identifikation von Leguminosenviren. Met een samenvatting: Voorgestelde methoden voor internationale identificatie van leguminosenvirussen* . . . 328
J. G. P. DIRVEN and H. A. VAN HOOF – A destructive virus disease of Pangola-grass. *Met een samenvatting: Een virusziekte van Pangola-gras* 344

BOEKBESPREKINGEN

J. G. HORSFALL and A. E. DIMOND – Plant Pathology, an advanced treatise (O.) . . 350
M. K. KLEMM und K. MANSFELD – Handbuch der Pflanzenkrankheiten, Bd. V. Lieferung 5, Vertebrata (DE FLUITER) 351
Mycological papers of the Commonwealth Mycological Institute, No. 70 en 72 (M. B. ELLIS), No. 71 (F. C. DEIGHTON) en No. 73 (C. BOOTH) (V.A.) 351

IN MEMORIAM

Professor Dr. T. H. THUNG

Wij verloren een goede vriend, steeds tot helpen bereid waar dit nodig was, vol vertrouwen in de mensheid en verontrust door de onheilspellende gang van het wereldgebeuren – een internationaal bekend onderzoeker.

THUNG TJENG HIANG werd in 1897 geboren te Buitenzorg op Java uit Chinese ouders, behorend tot een familie, die reeds een geslacht lang op Java had gewoond. De Nederlandse taal leerde hij op de lagere school. Deze feiten vormden de grondslag, waarop hij zijn latere leven zou uitbouwen. Met China heeft hij zich steeds verwant gevoeld door zijn filosofische wereldbeschouwing. Groot was zijn liefde voor dit land en de Chinese taal. Aan zijn geboorteland heeft hij vele jaren van zijn leven gegeven, werkend op wetenschappelijk en cultureel terrein en ondertussen bleef zijn aandacht voortdurend gericht op de hoge waarden van de West-Europese cultuur: zowel op wetenschappelijk als geestelijk gebied stond hij steeds open voor groeperingen van de meest verschillende levensopvatting, die op zijn belangstelling konden rekenen.

Na op Java de H.B.S. bezocht te hebben, vertrok THUNG naar Nederland, waar hij in 1916 zijn studie te Wageningen aanving. In 1919 behaalde hij het diploma „Landbouwkundige", dat de nog jonge Landbouwhogeschool toen nog uitreikte. Vervolgens studeerde hij korte tijd Oosterse talen en filosofie te Leiden tot hij, na een door gezondheidsredenen gedwongen rustperiode, naar Indië

terugkeerde voor familiebezoek. Een reis van 3 maanden door China leerde hem grote delen van „dit land zijner vaderen" kennen, waarna hij, ditmaal te Berlijn, zijn studie in Oosterse talen en filosofie weer opvatte. Uiteindelijk keerde hij toch weer naar Wageningen terug, waar hij in ruim een jaar tijds de titel „landbouw ingenieur" verwierf. Hij specialiseerde zich in planteziekten. Na korte tijd werkzaam geweest te zijn bij de Plantenziektenkundige Dienst, werd hij assistent bij het Laboratorium voor Mycologie en Aardappelonderzoek onder leiding van Prof. Dr. H. M. QUANJER. Het spreekt wel vanzelf, dat THUNG, met zijn grote begaafdheid voor het verrichten van wetenschappelijk onderzoek, zich sterk aangetrokken voelde tot de virologie, het door o.a. QUANJER pas ontsloten, zo fascinerende gebied. Zijn onderzoek over de fysiologische veranderingen in een door bladrol aangetaste aardappelplant sloot hij in 1928 af met een dissertatie getiteld: „Physiologisch onderzoek met betrekking tot het virus der bladrolziekte van de aardappelplant, *Solanum tuberosum* L." Deze publikatie is opgedragen aan zijn vrouw, FERNANDA LOUISE WILLEKES MACDONALD, die hem ook in zijn verdere leven tot voortdurende steun en hulp is geweest.

Na het behalen van de doctorstitel bracht het gezin een jaar in Frankrijk door, waar Dr. THUNG het voorrecht had een jaar te mogen werken in het Institut Pasteur te Parijs.

In 1929 vertrok het gezin naar Java, waar hij tot kort voor de tweede wereldoorlog belangrijk werk verrichtte op het Proefstation voor Vorstenlandse Tabak te Klaten. Het onderzoek had hier voornamelijk een toegepast karakter. Zo ontdekte hij de vector *Bemisia tabaci* van de „kroepoek"-ziekte van de tabak. Deze cicadellide, die op onkruiden aan de randen van de dessa's leeft, bracht virus van deze planten over op de tabak, aangeplant op naburige velden. Ook andere ziekten van de tabak hadden zijn aandacht, zoals de „lanas", een ernstige aantasting veroorzaakt door *Phytophthora nicotianae*. Daarnaast hielden echter vraagstukken van meer zuiver wetenschappelijke aard zijn geest bezig: wat gebeurt er als men 2 stammen van het tabaksmozaïekvirus tegelijk of na elkaar in een tabaksplant brengt? Het bleek dat één stam in een blad, laag aan de stengel gebracht, sneller de top bereikte dan een andere stam, tegelijkertijd in het blad gebracht. Deze stam verspreidde zich langzamer, maar bleek tenslotte in staat de eerste stam te verdringen. Dergelijke vraagstukken van interactie, premunitie of antagonisme hebben hem niet meer losgelaten.

Gedurende de oorlogsjaren werkte hij aan het Laboratorium voor Planteziekten van het Proefstation voor de Landbouw te Buitenzorg. Dit waren bewogen jaren. Veel speelde zich af in de beklemmende sfeer van de Japanse bezetting om en in het grote, enigszins verborgen gelegen woonhuis van de familie, waar bezoekers van verschillende landaard welkom waren, waar ieder als mens gezien werd en van waaruit aan zovelen hulp werd geboden.

Na de oorlog doorbrak een Europees verlof de Buitenzorgse periode. Benoemd tot hoogleraar in de fytopathologie aan de Landbouwfaculteit kregen in 1948 de ziekten van de bevolkingscultures opnieuw zijn aandacht, zoals die van de aardappel, de aardnoot, van sisal en van *Sorghum*.

In 1949 verscheen zijn, in de voorgaande verlofperiode geschreven boek: „Grondbeginselen van de plantenvirologie", een nog steeds veel gebruikt leerboek, het enige in het Nederlands geschreven overzichtelijke werk, dat in een behoefte voorzag. In hetzelfde jaar werd Professor THUNG benoemd tot buitengewoon hoogleraar aan de Landbouwhogeschool te Wageningen en tegelijker-

tijd tot hoofd van de Afdeling Virologie van het Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek.

In zijn rede, getiteld: „De ontwikkelingsgang der plantenvirologie", stelde hij duidelijk vast, wat zijn richtlijn in het onderzoek in het verleden geweest was en ook in de toekomst zou zijn: „de verdieping van het inzicht in de verhouding tussen plant en virus". In de volgende jaren wist hij dan ook het onderzoek op het Virologisch Laboratorium in deze richting te leiden. Het „geheim van het virus" bleef de achtergrond ook van het meer toegepaste werk, dat voor de praktijk bruikbare resultaten opleverde. THUNG's uitspraak in zijn rede, dat „de viren der planten niet aan landsgrenzen of continenten gebonden zijn", scheen ook op hemzelf betrekking te hebben. Elk Europees verlof had hij aangegrepen als een welkome gelegenheid om internationale congressen bij te wonen. In de periode 1950–1960 valt zijn grote activiteit op internationaal gebied, die zich o.a. uitte in zijn belangstelling voor hulp aan achtergebleven gebieden en in het organiseren van conferenties over aardappel-virusziekten, respectievelijk in 1951, 1954 en 1957, waarbij een steeds groter aantal buitenlanders aan de oproep naar Wageningen te komen gehoor gaf. Als organisator en middelpunt van deze congressen muntte hij, met Mevrouw THUNG, uit door hartelijke gastvrijheid en behulpzaamheid. Door vele reizen naar het buitenland werden de internationale contacten nog verstevigd:

In 1952 bezocht hij verschillende laboratoria in de U.S.A. in verband met zijn werkzaamheden op het Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek. In 1954 maakte hij met nog zeven Nederlandse collega's een reis door Rusland, op uitnodiging van de Russische regering.

In 1957 ging een lang gekoesterde wens in vervulling: Curatoren van de Landbouwhogeschool gaven toestemming tot het bouwen van een Laboratorium voor Virologie en Professor THUNG werd nu tot gewoon hoogleraar benoemd.

Voordat dit laboratorium gereed was maakte hij met zijn vrouw een reis door India, teneinde daar op verzoek van de Indonesische regering de opbouw van het hoger onderwijs in de landbouw te bestuderen. Hierover verscheen een lijvig rapport, waarvan de Landbouw-faculteit in Indonesië profijt kon trekken. Gedurende het jaar, dat Professor THUNG als gasthoogleraar te Bogor verbleef, had hij grote invloed op de jonge Indonesiërs, die meestal onder primitieve omstandigheden moesten studeren. In die periode beschreef hij vele virusziekten van cultuurplanten en bij zijn vertrek lag een werkprogramma gereed voor hen, die zijn werk wensten voort te zetten.

De terugreis werd op verzoek van de Indonesische regering gemaakt via Amerika, teneinde aldaar contacten te leggen voor uitwisseling van Amerikaanse studenten met die van de Universiteit van Indonesië. In 1958 vertrok hij opnieuw, met steun van een Rockefeller-stipendium, naar de U.S.A., waar hij het Symposium in Indiana mee maakte, georganiseerd door de „American Phytopathological Society" ter gelegenheid van het 50-jarig bestaan van deze vereniging. Van de U.S.A. uit maakte hij op verzoek van de Nederlandse regering een reis naar Venezuela en Suriname ter bestudering van de hoya blanca, een virusziekte van de rijst.

In 1960 maakte hij een reis naar Togo om advies te geven over een ziekte in de klappercultuur en kort daarop vertrok hij met zijn vrouw naar China, beiden uitgenodigd door de Academia Sinica. Hij hield daar vijf lezingen over virologische onderwerpen. Hoewel zijn artsen grote bezwaren hadden tegen deze laatste

tocht, doorstond hij de vermoeienissen van de reis, die een grote belevenis voor hem werd. Ondertussen werd in 1960 zijn eigen laboratorium officieel geopend. Met drie wetenschappelijke medewerkers, waaronder een biochemicus, kwam het werk snel op gang. In de periode van drie jaar van het bestaan van het Laboratorium verschenen reeds 13 publikaties, onder andere handelend over het mechanisme van de infectie en over remstoffen. Vier Wageningse ingenieurs ontvingen van Professor THUNG de doctorstitel.

Professor THUNG koesterde de wens zich na een vroeg emeritaat geheel aan het wetenschappelijke werk te kunnen wijden, onder andere hoopte hij de kopij klaar te kunnen maken voor een herdruk van zijn boek. Het heeft niet mogen zijn. Midden in het actieve leven is hij heengegaan.

Voor zijn gezin, de wetenschap en het samenbrengen van mensen van verschillende landaard en levensopvatting heeft hij geleefd. Zijn laatste woorden waren een pleidooi voor het bewaren van de vrede in de wereld.

Wij zijn dankbaar deze dieplevende mens vol van verontrusting gekend te hebben – maar wij verloren een vriend.

L. C. P. KERLING

PUBLIKATIES VAN PROF. DR. T. H. THUNG

1926

Peronospora parasitica (Pers.) de By attacking cabbage heads. Phytopath., 16: 365–366.

Opmerkingen over *Peronospora* op kool. (Bemerkungen über die Kohlperonospora.) T.Pl.-ziekten, 32: 161–179.

1928

Physiologisch onderzoek met betrekking tot het virus der bladrolziekte van de aardappelplant. (Physiological investigations in relation to the virus of potato leafroll disease.) T.Pl.-ziekten, 34: 1–74.

Over de knolentingen, die ter bestudering der virusziekten van de aardappelplant worden uitgevoerd. (Sur les greffages des tubercules de pomme de terre faits pour l'étude de dégénérescence.) T.Pl.-ziekten, 34: 195–199.

1929

Experimenten met *Bacterium tumefaciens* Sm. et Towns. (Experiments with *Bacterium tumefaciens* Sm. et Towns.) T.Pl.-ziekten, 35: 263–269.

1930

Phytopathologische waarnemingen. (Phytopathological observations.) In Jaarverslag 1 mei 1929–30 april 1930. Meded. Proefstat. Vorstenlandsche Tabak, No. 69: 21–40.

1931

Phytopathologische waarnemingen. (Phytopathological observations.) In Jaarverslag 1 mei 1930–30 april 1931. Meded. Proefstat. Vorstenlandsche Tabak, No. 71: 28–46.

Smetstof en plantencel bij enkele virusziekten van de tabaksplant I. (Infective principle and plant cell in some virus diseases of the tobacco plant I.) Handel. 6e Ned. Ind. natuurwetensch. Congr.: 450–463.

1932

De huidige stand van het *Phytophthora*-vraagstuk in de Vorstenlanden. (The present state of the *Phytophthora* problem in the Vorstenlanden.) Meded. Proefstat. Vorstenlandsche Tabak, No. 74, 50 blz.

De krul- en kroepoekziekten van tabak en de oorzaken van hare verbreiding. (The curl- and crinkle diseases of tobacco and the causes of their dissimination.) Meded. Proefstat. Vorstenlandsche Tabak, No. 72, 54 blz.

Phytopathologische waarnemingen. (Phytopathological observations.) In Jaarverslag 1 mei 1931–30 april 1932. Meded. Proefstat. Vorstenlandsche Tabak, No. 76: 30–51.

1933

Phytopathologische waarnemingen. (Phytopathological observations.) In Jaarverslag 1 mei 1932–30 april 1933. Meded. Proefstat. Vorstenlandsche Tabak, No. 77: 34–38.

1934

Bestrijding der krul- en kroepoekziekten van tabak. (The control of the curl- and crinkle diseases of tobacco). Meded. Proefstat. Vorstenlandsche Tabak, No. 78, 18 blz.

1935

Infective principle and plant cell in some virus diseases of the tobacco plant II. Handel. 7e Ned. Ind. natuurwetensch. Congr.: 496–507.

Phytopathologische waarnemingen. (Phytopathological observations.) In Jaarverslag 1 mei 1933–30 april 1934. Meded. Proefstat. Vorstenlandsche Tabak, No. 81: 25–37.

1936

Phytopathologische waarnemingen. (Phytopathological observations.) In Jaarverslag oogstjaar 1934–1935. Meded. Proefstat. Vorstenlandsche Tabak, No. 82: 27–35.

1937

Smetstof en plantencel bij enkele virusziekten van de tabaksplant III. (Infective principle and plant cell in some virus diseases of the tobacco plant III.) T.Pl.-ziekten, 43: 11–32.

Phytopathologische waarnemingen. (Phytopathological observations.) In Jaarverslag oogstjaar 1935–1936. Meded. Proefstat. Vorstenlandsche Tabak, No. 84: 25–42.

1938

Phytopathologische waarnemingen. (Phytopathological observations.) In Jaarverslag 1936–1937. Meded. Proefstat. Vorstenlandsche Tabak, No. 85: 25–39.

Smetstof en plantencel bij enkele virusziekten van de tabaksplant IV. (Infective principle and plant cell in some virus diseases of the tobacco plant IV.) T.Pl.-ziekten, 44: 225–245.

De epidemiologie van de *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* op de Vorstenlandsche tabaksondernemingen. (The epidemiology of the *Phytophthora* disease on the Vorstenlanden tobacco plantations.) Meded. Proefstat. Vorstenlandsche Tabak, No. 86, 53 blz.

1939

Smetstof en plantencel bij enkele virusziekten van de tabaksplant V. (Infective principle and plant cell in some virus diseases of the tobacco plant V.) T.Pl.-ziekten, 45: 247–259.

On the possibility of immunising tobacco and potato plants against virus diseases. Atti e communicazoni del IV Congresso internaz. di Patologia comparata, Roma, Vol. II: 375–378.

Phytopathologische waarnemingen. (Phytopathological observations.) In Jaarverslag 1937–1938. Meded. Proefstat. Vorstenlandsche Tabak, No. 87: 23–46.

1940

Phytopathologische waarnemingen. (Phytopathological observations.) In Jaarverslag 1938–1939. Meded. Proefstat. Vorstenlandsche Tabak, No. 88: 24–28.

Waarnemingen over resistentie eigenschappen bij verschillende tabakssoorten. (Observations on resistance properties of various tobacco varieties.) Landbouw, 16: 646–652.

1947

Heksenbezem bij bataten *(Ipomoea batata)*, een virusziekte. (Witches' broom disease of sweetpotato *(Ipomoea batata)*, a virus disease.) Landbouw, 19: 286–287.

Virusziekten van *Arachis hypogaea*. (Virus diseases of *Arachis hypogaea.)* Landbouw, 19: 337–347.

De verspreidingswijze van plantenziekten. (The mode of transmission of plant diseases.) Landbouwk. T., 59: 711–712.

Potato diseases and hybridisation. Phytopath., 37:373–381.

Antagonistische acties van viren I. (Antagonistic actions of viruses I.) T.Pl.-ziekten, 53: 43–48.

Grondonderzoek op *Phytophthora sabdariffae*. (Soil investigation on *Phytophthora sabdariffae*.) T.Pl.-ziekten, 53: 86–90.

1948

Waarnemingen over enkele plantenviren met het electronenmicroscoop. (Observations on some plant viruses with the electron microscope.) Chron. naturae, 104: 344–348.

1949

Grondbeginselen der plantenvirologie. (Principles of plant virology.) Meded. Landbouwhogesch. Wageningen, 49 (4): 29–149.

Zwartrot van kool. (Black rot of cabbage.) Landbouw, 21: 259–266.

1950

De ontwikkelingsgang der plantenvirologie. Inaugurele rede, Wageningen, 24 blz.

1951

Internationale conferentie over aardappelvirusziekten, Wageningen-Lisse, 13–16 augustus 1951. Maandbl. Landbouwvoorl.-dienst, 8: 421–430.

1952

Herkenning en genezing van enige virusziekten. (Diagnosis and curing of some virus diseases.) Meded. Dir. Tuinbouw, 15: 714–721.

Met het virus in het grensgebied? Publik. Ver. Leraren in de Biologie, Congres, 8 blz.

Inleiding tot de Heterosis-cursus: Virusziekten bij mens, plant en dier. Landbouw No. 14: 3–5.

Waarnemingen omtrent de dwergziekte bij framboos en wilde braam II. (Observations on the Rubus stunt disease in raspberries and wild blackberries II.) T.Pl.-ziekten, 58: 255–259.

The infectivity of viruses. Proc. 1st Conf. Potato Virus Diseases, Wageningen-Lisse: 76–80.

1953

Corky root disease of tomato caused by a virus. Atti VI Congr. internaz. Microbiol., Roma, Vol. III, Sez. IX: 392–393.

1954

Algemene aspecten van het virusonderzoek. Ent. Ber., 15: 34–38 (met Eng. samenvatting).

Het landbouwwetenschappelijk onderzoek in de Sovjet-Unie. (Agricultural research in the Soviet Union.) Meded. Dir. Tuinbouw, 17: 938–950.

1955

Soil-borne tobacco viruses. Premier Congr. scient. intern. Tabac, Paris, 2: Communications: 684–685.

Preface. In Proc. 2nd Conf. Potato Virus Diseases, Lisse-Wageningen: 9.

1957

Epidemiologie der pflanzlichen Viruskrankheiten. Nova Acta Leopoldina, N.F., 19 (134): 95–108.

Het virologisch onderzoek aan de landbouwhogeschool. (Virological research in the Agricultural University, Wageningen.) T.Pl.-ziekten, 63: 209–221.

1958

Preface. Proc. 3rd Conf. Potato Virus Diseases, Lisse-Wageningen: 11.

Some considerations regarding an inquiry on tobacco virus diseases. Proc. 2nd intern. scient. Tobacco Congr., Brussels: 59–66.

1960

„Hoja blanca", een schadelijke virusziekte bij de rijstcultuur. ("Hoja blanca" (White leaf), a harmful virus disease of rice.) Landbouwk. T., 72: 290–295.

IN SAMENWERKING MET ANDEREN GESCHREVEN PUBLIKATIES:

1929

QUANJER, H. M., T. H. THUNG en D. L. ELZE, – „Pseudonetnecrose" van de aardappel. (Pseudonetnecrosis of the potato.) Meded. Landbouwhogesch., Wageningen, 33, 10 blz.

1941

KARTHAUS, J. P. en T. H. THUNG, – Het verenten van tomaten op voor slijmziekte resistente onderstammen. (The grafting of tomatoes on stocks resistant to slime disease.) Natuurwetensch. T. Ned. Indië, 101: 226–270.

1947

ALGERA, L., T. H. THUNG en J. P. H. VAN DER WANT, – Over het zuiveren van plantenviren. (On the purification of plant viruses.) T.Pl.-ziekten, 53: 133–136.

REITSMA, J., W. C. SLOOFF en T. H. THUNG, – Frog-eye and barn spot on tobacco leaves caused by *Cercospora nicotianae* Sacc. et Sydow. Chron. naturae, 103: 94–98.

SLOOFF, W. C., T. H. THUNG en J. REITSMA, – Leaf diseases of sereh *(Andropogon nardus* L.) I. Banded sclerotial disease caused by *Rhizoctonia grisea* (Stevens) Matz. Chron. naturae, 103: 6–9.

SLOOFF, W. C., T. H. THUNG en J. REITSMA, – Leaf diseases of sereh *(Andropogon nardus* L.) II. Leaf blotch caused by *Curvularia andropogonis* (Zimmermann) Boedijn nov. comb. Chron. naturae, 103: 137–139.

1950

EEK, F. VAN en T. H. THUNG, – Resultaten van onderzoekingen omtrent aardappelziekten op Java. (Results of investigations on potato diseases in Java.) Landbouw, 22: 303–346.

HOUTEN, J. G. TEN, T. H. THUNG, D. MULDER, J. C. SCHREUDER en S. DE BOER, – Indrukken van het 7e internationale botanische congres te Stockholm, 12–20 juli 1950. Meded. Dir. Tuinbouw, 13: 869–894.

QUANJER, H. M. en T. H. THUNG, – International committee on nomenclature and classification of plant viruses. T.Pl.-ziekten, 56: 286–287.

ROZENDAAL, A., T. H. THUNG en J. P. H. VAN DER WANT, – Soil-borne viruses. Proc. 7th intern. bot. Congr., Stockholm: 709–710.

ROZENDAAL, A., T. H. THUNG en J. P. H. VAN DER WANT, – Curing virus diseases by heat. Proc. 7th intern. bot. Congr., Stockholm: 710–711.

THUNG, T. H. en T. HADIWIDJAJA, – Het overbrengen van viren met behulp van *Cucscuta australis*. R.Br. I. (Virus transmission by *Cuscuta australis* R.Br. I.) T.Pl.-ziekten, 56: 349–351.

THUNG, T. H., W. C. SLOOFF en J. REITSMA, – *Pythium splendens* as the cause of wilt of *Corchorus capsularis* L. Contrib. gen. agric. Res. Sta. Bogor (formerly: Meded. alg. Proefstat. Landbouw, Batavia), 109: 22–26.

1951

FLUITER, H. J. DE en T. H. THUNG, – Waarnemingen omtrent de dwergziekte bij framboos en wilde braam I. (Observations on the Rubus stunt disease of raspberry and wild blackberry, I). T.Pl.-ziekten, 57: 108–114.

NOORDAM, D., T. H. THUNG en J. P. H. VAN DER WANT, – Onderzoekingen over anjermozaïek I. (Investigations on carnation mosaic I.) T.Pl.-ziekten, 57: 1–15.

THUNG, T. H. en T. HADIWIDJAJA, – Groeistoffen in verband met virusziekte, in het bijzonder bij *Arachis hypogaea*. (Growth substances in relation to virus diseases; experiments with *Arachis hypogaea*.) T.Pl.-ziekten, 57:95–99.

THUNG, T. H. en J. P. H. VAN DER WANT, – Viren en looistoffen. (Viruses and tannins.) T.Pl.-ziekten, 57:173–174.

1953

THUNG, T. H. en T. HADIWIDJAJA, – De krupukziekten van *Crotalaria* en *Arachis hypogaea*. (The crinkle diseases of *Crotalaria* and *Arachis hypogaea*.) Landbouw, 25: 149–162.

HOUTEN, J. G. TEN, H. J. DE FLUITER en T. H. THUNG, – Het onderzoek van ziekten en plagen van land- en tuinbouwgewassen in Amerika. Rapport Studiegroep Landbouw, C.O.P., 's-Gravenhage, 417 blz., Eng. samenv.

1954

BEEMSTER, A. B. R., D. H. M. VAN SLOGTEREN en T. H. THUNG, – De inactivering van plantenviren. (The inactivation of plant viruses.) Meded. Dir. Tuinbouw, 17: 165–170.

1957

NOORDAM, D., G. P. TERMOHLEN en T. H. THUNG, – Kurkwortelverschijnselen van tomaat, veroorzaakt door een steriel mycelium. (Corky root symptoms of tomato, caused by a sterile mycelium.) T.Pl.-ziekten, 63: 145–152.

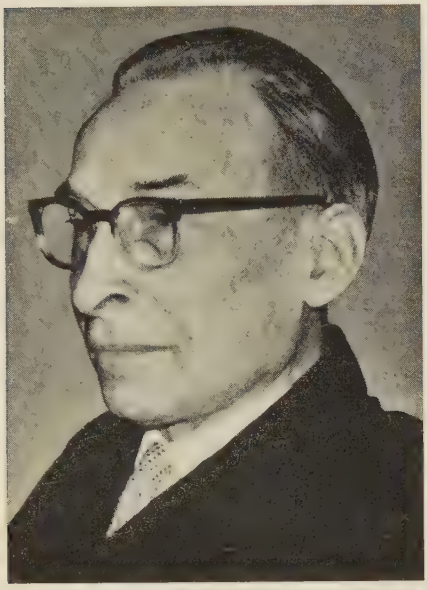
THUNG, T. H. en T. HADIWIDJAJA, – De heksenbezemziekte bij leguminosen. (Witches' broom disease of *Leguminosae*.) T.Pl.-ziekten, 63: 58–63.
THUNG, T. H. en T. HADIWIDJAJA, – Some remarks on Rotterdam-B virus. Proc. 3rd Conf. Potato Virus Diseases, Lisse-Wageningen: 233–238.

1958
COCHRAN, G. W. en T. H. THUNG, – The recovery of tobacco mosaic during the first three hours following inoculation. Proc. 2nd intern. scient. Tobacco Congr., Brussels: 102–104.
THUNG, T. H. en J. DIJKSTRA, – Binding van virusremstoffen aan kleimineralen. (Adsorbtion of virus-inhibiting substances by clay minerals.) T.Pl.-ziekten, 64: 411–418.

1959
THUNG, T. H. en D. NOORDAM, – Over het mechanisme der infectie. (On the mechanism of the virus infection.) Meded. Landbouwhogesch. Opzoekingsstat. Staat, Gent, 24: 775–778.

IN MEMORIAM

Dr. Ir. J. A. A. M. H. Goossens



In de ouderdom van 64 jaren overleed Dr. Goossens, tot voor kort Hoofdambtenaar bij de Plantenziektenkundige Dienst. Zijn gezondheid was reeds geruime tijd minder goed en dit noopte hem om in 1959 met vervroegd pensioen te gaan.

Ondanks zijn ziekte behield hij zijn belangstelling voor het werk en tot het laatst had hij zitting in de Redactie van ons Tijdschrift, een functie die hij zeer lang heeft vervuld.

Dr. Goossens kwam in 1927 als fytopatholoog bij de Plantenziektenkundige Dienst. Het was vooral diagnostisch werk waaraan hij zijn aandacht heeft gegeven. In 1928 promoveerde hij op *Phoma apiicola* van knolselderij en later verschenen verschillende publikaties, vooral op diagnostisch gebied, zowel in het Tijdschrift over Planteziekten als in de Verslagen en Mededelingen van de Plantenziektenkundige Dienst. In de laatste jaren stelde hij een overzicht samen over alles wat op diagnostisch gebied bij planteziekten in Nederland bekend was geworden. Zijn werk droeg het karakter van een grote zorgvuldigheid.

In het dagelijks leven was Dr. Goossens een bescheiden en zeer beminnelijk mens en ook aan deze menselijke eigenschappen zullen wij steeds met zeer veel waardering blijven denken. T.

T. Pl.ziekten 66 (1960): 314–327

DE FYSIOLOGISCHE SPECIALISATIE VAN *CLADOSPORIUM FULVUM* EN HET KWEKEN VAN TEGEN DE BLADVLEKKENZIEKTE RESISTENTE TOMATERASSEN[1]

With a summary: Physiologic specialisation of Cladosporium fulvum *and the breeding for resistance in tomatoes*

DOOR

G. P. TERMOHLEN[2]

Proefstation voor de Groenten- en Fruitteelt onder Glas, Naaldwijk

INLEIDING

LANGFORD (1937) heeft aangetoond dat van de schimmel *Cladosporium fulvum* COOKE fysiologische rassen[3] bestaan. Op de tomaterassen Stirling Castle en Potentaat kon hij de fysio's 1 en 2 onderscheiden, doordat eerstgenoemd ras resistent is tegen fysio 1. LANGFORD gebruikt als symbool voor de dominante factor voor resistentie Cf_{sc} (C = *Cladosporium*, f = *fulvum*, sc = Stirling Castle). Hij maakte een kruising tussen het cultuurras Potentaat en het wilde ras *Lycopersicum pimpinellifolium*. Uit de reactie ten opzichte van beide fysio's van planten van de nakomelingschap uit deze kruising bleek dat het wilde ras beschikte over twee dominante factoren voor resistentie Cf_{p1} en Cf_{p2}: deze factoren splitsten onafhankelijk van elkaar.

BAILEY (1950), die het werk van LANGFORD heeft voortgezet, heeft het bestaan van de fysio's 5, 6, 7, 8 en 9 kunnen aantonen (de fysio's 3 en 4 zijn vervallen, omdat deze fysio's cultuurmutanten waren van respectievelijk de fysio's 1 en 2 en bovendien op de plant hetzelfde ziektebeeld te zien gaven). Hij onderscheidt deze fysio's van elkaar met behulp van de rassen Stirling Castle, Vetomold en V 121. Het ras Vetomold bezit de factor Cf_{p1} en het ras V 121 de factor Cf_{p2}. BAILEY veronderstelt dat nieuwe fysio's ontstaan na de introductie van rassen met resistentiefactoren. De introductie van een resistent ras geschiedt in Canada meestal op grote schaal. BAILEY kon steeds, nadat een dergelijk ras enkele jaren was geteeld en vatbaar geworden, op grote schaal het fysio isoleren waarvoor dit ras specifiek gevoelig is. Andere fysio's kwamen dan niet of vrijwel niet voor.

DAY (1954, 1956) geeft een overzicht van de frequentie van voorkomen van de fysio's van *Cladosporium fulvum* in Engeland en Wales; hij stelt een nieuwe aanduiding voor van de fysio's. BUTLER (1953) brengt een vereenvoudiging aan in de aanduiding van de resistentiefactoren in die zin, dat de factoren Cf_{sc}, Cf_{p1} en Cf_{p2} in het vervolg worden aangeduid als Cf_1, Cf_2 en Cf_3, terwijl combinaties van deze factoren bijv. het symbool Cf_1Cf_2 krijgen. Het systeem waarin de reactie van de rassen met resistentiefactoren ten opzichte van de verschillende

[1] Aangenomen voor publikatie 24 aug. 1960.

[2] Voorheen werkzaam bij het Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen en de Laboratoria voor Fytopathologie en Tuinbouwplantenteelt der Landbouwhogeschool, Wageningen.

[3] De term fysiologische rassen wordt in het vervolg afgekort tot fysio's (OORT, 1944).

fysio's wordt vermeld, is te vergelijken met het systeem dat door BLACK (1952) ontworpen is voor *Phytophthora infestans* bij de aardappel. Het fysio dat de werking van de resistentiefactor Cf_1 te niet doet, krijgt het cijfer 1; zo zal fysio 1,2 de werking van de factorencombinatie Cf_1Cf_2 te niet doen. De nummers 1, 2, 5, 6, 7, 8 en 9, welke door LANGFORD en BAILEY aan de fysio's gegeven zijn, zijn daardoor veranderd in respectievelijk 0, 1, 2, (1,2,3), (2,3), (1,2) en 3. De factor voor vatbaarheid wordt aangeduid als cf; het fysio dat bij deze factor behoort, krijgt het cijfer 0. Een en ander wordt verduidelijkt in tabel 1.

TABEL 1. De reactie van de rassen van het toetssortiment ten opzichte van de fysio's van *Cladosporium fulvum*.
The varieties of the testsortiment and their reaction to the races of Cladosporium fulvum.

Toetsrassen *Varieties*	Resistentiegenen *Genes for resistance*		Fysio's en reactietype[1] *Races and type of reaction*[1]							
	Oude aanduiding *Figures formely used*		1	2	5	9	8	10	7	6
		Nieuwe aanduiding *New figures*	0	1	2	3	1.2	1.3	2.3	1.2.3
Potentaat	cf	cf	V	V	V	V	V	V	V	V
Stirling Castle	Cf_{sc}	Cf_1	R	V	R	R	V	V	R	V
Leaf Mould Resister no. 1	Cf_{sc}	Cf_1	R	V	R	R	V	V	R	V
Vetomold	Cf_{p1}	Cf_2	O	O	V	O	V	O	V	V
V121	Cf_{p2}	Cf_3	R	R	R	V	R	V	V	V
V473	$Cf_{sc}C\ f_{p1}$	Cf_1Cf_2	O	O	R	O	V	O	R	V
L. pimpinellifolium, Vineland	$Cf_{p1}Cf_{p2}$	Cf_2Cf_3	O	O	R	O	R	O	V	V

[1] V = vatbaar; R = resistent; O = onvatbaar.
[1] V = *susceptible*; R = *resistant*; O = *immune*.

Uit het onderzoek van DAY (1954) is naar voren gekomen, dat fysio 0 frequenter voorkomt dan de overige fysio's. Waarschijnlijk wordt dit beïnvloed door de omstandigheid dat nieuwe resistente rassen in Engeland op veel kleinere schaal geteeld worden dan dit in Canada het geval is.

KERR (1957, 1959, 1960) en KERR & BREWER (1955) hebben behalve het wilde ras *L. pimpinellifolium* ook het wilde ras *L. hirsutum* betrokken in een veredelingsprogramma tot het kweken van tegen de bladvlekkenziekte resistente tomaterassen. BAILEY (1950) had reeds aangetoond dat het ras *L. hirsutum* onvatbaar was voor alle toen bekende fysio's. Hoewel dit ras beschikt over een resistentiefactor (wellicht zelfs meerdere factoren), wordt deze factor in de literatuur niet door een symbool weergegeven.

Het onderzoek naar het voorkomen van fysio's van de schimmel werd in Nederland uitgevoerd in het Laboratorium voor Fytopathologie te Wageningen in de jaren 1952, 1953 en 1954. In het bijzonder is hierbij gelet op de mate van voorkomen van de fysio's in verschillende delen van Nederland. Voorts is aandacht besteed aan de invloed welke de uitwendige omstandigheden kunnen uitoefenen op het ziektebeeld en de moeilijkheden die zich hierdoor bij het determineren van fysio's kunnen voordoen. Omdat de schimmel in reincultuur gemakkelijk muteert, is nagegaan welke reacties de mutanten op de plant veroorzaken in vergelijking tot de reacties veroorzaakt door de oorspronkelijke culturen.

Het kweken van resistente tomaterassen is begonnen in 1949 en tot 1955 uitgevoerd op het terrein van het Laboratorium voor Tuinbouwplantenteelt te Wageningen en daarna voortgezet op het Proefstation voor de Groenten- en Fruitteelt onder Glas te Naaldwijk. Het doel was het kweken van een voor de praktijk in Nederland bruikbaar cultuurras, resistent tegen de bladvlekkenziekte. De in Canada en Engeland gekweekte rassen voldoen namelijk niet aan de eisen welke in Nederland aan de tomaat gesteld worden. Als geniteur voor de resistentie is een selectie van het wilde ras *L. pimpinellifolium* gekozen. Dit ras beschikt, naar later bleek, over de resistentiefactoren Cf_1 en Cf_3.

In de tekst en in de tabellen worden de nieuwe aanduidingen voor fysio's en resistentiefactoren gebruikt, waarbij wij er de voorkeur aan geven voor het aanduiden van de fysio's in plaats van bijv. (1,3) het symbool 1.3 te gebruiken.

Materiaal en methodiek

Een toetssortiment van drie rassen, welke respectievelijk de factoren Cf_1, Cf_2 en Cf_3 bezitten, is voldoende om de fysio's 0, 1, 2, 3, 1.2, 1.3, 2.3 en 1.2.3 te kunnen determineren. Day (1954) gebruikte hiervoor de rassen Leaf Mould Resister no. 1 (Cf_1), Vetomold (Cf_2) en V 121 (Cf_3). Bailey (1950) heeft in plaats van het ras Leaf Mould Resister no. 1 het ras Stirling Castle gebruikt. Behalve de door Bailey gebruikte rassen hebben wij tevens de rassen V 473 (Cf_1Cf_2) en *L. pimpinellifolium* (Cf_2Cf_3) in het toetssortiment opgenomen (tabel 1). Als controle-ras (vatbaar voor alle fysio's) diende het ras Potentaat; Day gebruikte hiervoor het ras Ailsa Craig. De fysio's 0, 1, 2, 1.2 en 2.3 zijn in 1951 welwillend door Dr. D. L. Bailey afgestaan aan mejuffrouw Ir. M. Bakker en in 1953 door schrijver van haar overgenomen; fysio 3 is in 1953 in Nederland gevonden. Tot nu toe is fysio 1.3 hypothetisch, terwijl fysio 1.2.3. sporadisch in Canada is gevonden (Bailey, 1950).

In het eigen onderzoek werd bij het toetsen van schimmelisolaties op een toetssortiment uitgegaan van méér-sporen-culturen, welke rechtstreeks van aangetast blad gekweekt werden op moutagar. Het gevaar bestaat, dat op deze wijze enkele fysio's tegelijk geïsoleerd worden. De planten werden geïnoculeerd als deze twee tot drie weken oud waren (dat wil zeggen twee tot vier bladeren hadden). De sporensuspensie werd met een handverstuivertje op de bladeren gebracht. Gedurende twee dagen na de inoculatie werd een relatieve luchtvochtigheid gehandhaafd groter dan 85%, daarna tot het eind der incubatietijd van 70–80%. De temperatuur werd steeds op 22–24 °C gehouden. Afhankelijk van de mogelijkheden aan deze voorwaarden te voldoen was de incubatietijd 11–20 dagen. Zowel een lagere luchtvochtigheid als een lagere temperatuur hebben een verlenging van de incubatietijd tot gevolg. De planten stonden opgesteld in glazen kooien; per kooi kwam éénmaal het toetssortiment (per ras drie planten) en één te toetsen isolatie uit de praktijk voor. Als controle werden steeds de bekende fysio's 0, 1, 2, 3, 1.2 en 2.3 in de proef betrokken.

De waarneming van Bond (1938), dat de incubatietijd op vatbare rassen korter is dan op resistente rassen, kon niet worden bevestigd.

Langford (1937) gebruikte voor de inoculatie één tot twee maanden oude, krachtig groeiende planten. De planten werden na de inoculatie gedurende 24 uur bij een relatieve luchtvochtigheid van 90% geplaatst, daarna onder normale omstandigheden. Bailey (1950) inoculeerde de planten als deze 3–5 bladeren

hadden; gedurende 24–48 uur bleven de planten bij een luchtvochtigheid hoger dan 80% en een temperatuur welke niet hoger was dan 32°C, daarna onder normale omstandigheden. De incubatietijd bedroeg 10–20 dagen, afhankelijk van temperatuur, luchtvochtigheid en licht. Day (1954) ging uit van één-spore-

Tabel 2. Vatbaarheidsklassen van de reactie van *Cladosporium fulvum* op een toetssortiment.
Susceptibility classes of the reaction of Cladosporium fulvum *on a test sortiment.*

Klasse *Class*	Beoordeling *Type of reaction*	Symptomen *Symptoms*
1	Zeer vatbaar (zie fig. 1) *Very susceptible*	Sterk sporulerende vlekken op de onderzijde van het blad; lichte verkleuring op de bovenzijde, later hierop ook vorming van sporen; spoedig afstervende bladeren *Strongly sporulating spots on the under side of the leaf; light discolouration on the upper side of the leaf, later also with formation of spores; quick-dying leaves*
2	Vatbaar *Susceptible*	Sterk sporulerende vlekken op de onderzijde van het blad; weinig verkleuring en weinig of geen sporen op de bovenzijde *Strongly sporulating spots on the under side of the leaf; little discolouration and few or no spores on the upper side of the leaf*
3	Matig vatbaar *Moderately susceptible*	Minder sporevorming op de onderzijde van het blad; op de bovenzijde toenemende geelkleuring der vlekken, corresponderend met die op de onderzijde *Less spore formation on the under side of the leaf; on the upper side of the leaf increasing yellow discolouration of the spots, corresponding with those on the under side of the leaf*
4	Matig resistent (zie fig. 2) *Moderately resistant*	Weinig sporevorming op de onderzijde van het blad; vlekken scherper begrensd, lichter van kleur op de onderzijde, geel van kleur op de bovenzijde van het blad; geringe necrose in het centrum der vlekken *Little spore formation on the under side of the leaf; spots more sharply outlined, lighter in colour on the under side of the leaf, yellow in colour on the upper side of the leaf; slight necrosis in the centre of the spots*
5	Resistent *Resistant*	Geen sporevorming; vlekken als bij 4; soms toenemende necrose, beginnend in het centrum van de vlekken *No spore formation; spots as in no 4; an occasional increasing necrosis, starting from the centre of the spots*
6	Onvatbaar *Immune*	Geen *None*

culturen en inoculeerde planten met 3–4 bladeren. De planten waren op het moment van inoculeren ongeveer één maand oud en bleven gedurende de incubatietijd onder optimale omstandigheden voor de ontwikkeling van de schimmel, te weten een temperatuur van 22 °C en een relatieve luchtvochtigheid van 75–80%.

Het tijdstip van de beoordeling van het ziektebeeld werd afhankelijk gesteld van het controle-ras. Als hierop sterk sporulerende vlekken te zien waren, werden alle rassen van het toetssortiment beoordeeld. De vatbaarheidsklassen van de reactie van *Cladosporium fulvum* op het toetssortiment zijn weergegeven in tabel 2 (zie ook fig. 1 en 2). Om een vergelijking mogelijk te maken met de beoordelingswijze van Bailey en Day, werden de klassen 1, 2 en 3 samengevoegd tot vatbaar, 4 en 5 tot resistent. Door deze werkwijze konden in tabel 1 de symbolen V (vatbaar), R (resistent) en O (onvatbaar) gebruikt worden. Het verkrijgen van de juiste reactiebeelden is sterk afhankelijk van de uitwendige omstandigheden. Het genenmilieu waarin een resistentiefactor verkeert, is echter mede bepalend voor het reactietype. Twee rassen met dezelfde resistentiefactor kunnen ten opzichte van een bepaald fysio ziektebeelden geven, waartussen geringe verschillen bestaan. De term onvatbaar wil zeggen dat na de inoculatie geen reactie waarneembaar is. De schimmel kan soms wel binnendringen (door de huidmondjes), doch sterft meestal reeds in de huidmondjes af. Enkele keren zijn onder optimale omstandigheden bij een O-reactie microscopisch kleine, necrotische vlekjes waargenomen. Deze reactie is echter in elk opzicht verschillend van welke R-reactie ook. De factor Cf_2 geeft steeds een onvatbaarheidsreactie ten aanzien van de fysio's 0, 1 en 3, ook in combinatie met de factoren Cf_1 en/of Cf_3. De factor Cf_2 oefent blijkbaar een sterkere werking uit dan de beide andere factoren. Om deze redenen is in tabel 1 dan ook onderscheid gemaakt tussen R en O. Bij het opstellen van de reactietypen van het toetssortiment voor het ontbrekende fysio 1.3 en voor het fysio 1.2.3 is uitgegaan van de hypothese, dat O en R steeds dominant zijn over respectievelijk R en V.

Fysio's welke in Canada, Engeland en Nederland zijn gevonden

Langford (1937) is de eerste geweest, die het bestaan van fysiologische rassen van de schimmel heeft aangetoond. Op de rassen Potentaat en Stirling Castle onderscheidde hij de fysio's 0 en 1. Stirling Castle reageerde op één van deze stammen met een resistentiereactie; hieruit bleek dat dit ras over een resistentiefactor beschikt (Cf_1).

Bailey (1950) veronderstelt dat in 1940 in Canada slechts de door Langford gevonden fysio's 0 en 1 aanwezig waren. Hij is van mening dat de door de veredeling verkregen resistente tomaterassen hebben bevorderd dat nieuwe fysio's door mutatie ontstonden. In de jaren 1937 tot 1947 werden achtereenvolgens de resistente rassen Vetomold, V 121 en V 473 gekweekt. Steeds kon vrij kort na de introductie van deze rassen in de praktijk een nieuw fysio worden aangetoond en wel fysio 2 na Vetomold, fysio 2.3 na V 121 en fysio 1.2 na V 473. Het nieuwe fysio trad spoedig sterk op de voorgrond, vermoedelijk ten gevolge van de algemene verbreiding van het aanvankelijk resistente ras. Tussentijds werden nog de fysio's 1.2.3 en 3 geïsoleerd, respectievelijk van de rassen Stirling Castle (Cf_1) en V 121 (Cf_3). De verbreiding van deze fysio's is zeer beperkt gebleven.

DAY (1954) heeft het onderzoek naar het voorkomen van fysio's in Engeland en Wales gebaseerd op de door de bekende resistentiefactoren (Cf_1, Cf_2 en Cf_3) gegeven mogelijkheden. In 1951 isoleerde hij van 52 monsters bladeren met bladvlekkenziekte de fysio's 0, 1, 2 en 1.2 en in 1953 van 124 monsters de fysio's 0, 1, 2, 3, 1.2 en 2.3. De frequentie van voorkomen der fysio's blijkt uit tabel 3.

TABEL 3. Het voorkomen van fysio's in Engeland en Wales.
Races of Cladosporium fulvum *in England and Wales.*

Jaar *Year*	Fysio/*Race*						Totaal aantal monsters *Total number of samples*
	0	1	2	3	1.2	2.3	
1951	27	6	17	0	2	0	52
in %*	52	11,5	32,7	0	3,8	0	
1952	82	11	24	3	3	1	124
in %	66,1	9	19,3	2,4	2,4	0,8	

* In de oorspronkelijke tabel van DAY (1954) zijn deze percentages niet opgenomen.
* *DAY did not mention the percentages.*

In tegenstelling tot een vrij algemene verbreiding van resistente rassen in Canada, zijn nieuwe rassen in Engeland slechts op beperkte schaal door de praktijk geaccepteerd. Dit kan oorzaak zijn van het minder frequent voorkomen van meer gespecialiseerde fysio's.

Uit het eigen onderzoek is naar voren gekomen, dat in 1953 en 1954 de fysio's 0, 1, 2, 3, 1.2 en 2.3 in Nederland voorkwamen. In deze jaren zijn 300 isolaties getoetst, welke verspreid over geheel Nederland zijn geïsoleerd,[1] voor het grootste deel van de rassen van het vatbare type (zie tabellen 4 en 5). Bij het toetsen

TABEL 4. Het voorkomen van fysio's in Nederland.
Races of Cladosporium fulvum *in the Netherlands.*

1953/'54	Fysio/*Race*					Totaal *Total*
	0 + 1	2	2.3	1.2	3	
Aantal isolaties *Number of isolates*	204	33	30	19	14	300
in %	68	11	10	6,3	4,7	100

van 250 isolaties ontbrak de juiste indicator voor fysio 1. Uit de overige 50 isolaties kon 39 maal fysio 0 tegen 5 maal fysio 1 worden aangetoond (in de tabel zijn alle reactietypen voor fysio 0 en 1 samengevoegd). Evenals in Engeland speelt ook in Nederland fysio 0 een overheersende rol. Een aannemelijke verklaring is, dat in Nederland in die jaren slechts rassen van het vatbare type werden geteeld. Ook per provincie is fysio 0 in de meerderheid; in de provincie Groningen kwam echter fysio 2 meer voor dan fysio 0. Een mogelijke oorzaak is dat meerdere isolaties gemaakt zijn van rassen welke geacht kunnen worden resistent te zijn tegen de fysio's 0 en 1. Dit was niet na te gaan. In dat geval kàn

[1] De schrijver is zeer erkentelijk voor de hulp die bij het verzamelen van aangetaste bladmonsters geboden is door de verschillende Rijkstuinbouwconsulentschappen.

TABEL 5. Verspreiding van fysio's over Nederland in de jaren 1953 en 1954.
Distribution of races in the Netherlands in 1953 and 1954.

Provincie *District*	Aantal isolaties *Number of isolates*	Fysio's/*Races*									
		0 + 1		2		2.3		1.2		3	
		Aantal *Number*	%	Aantal *Number*	%	Aantal *Number*	%	Aantal *Number*	%	Aantal *Number*	%
Noord-Holland . . .	13	9	69,2	1	7,7	1	7,7			2	15,4
Zuid-Holland . . .	89	62	69,7	6	6,7	12	13,5	2	2,2	7	7,9
Zeeland	2									2	100
Noord-Brabant . . .	2	2	100								
Limburg	43	41	95,3	2	4,7						
Gelderland	58	28	48,3	12	20,7	10	17,2	7	12,1	1	1,7
Utrecht	44	42	95,4							2	4,6
Groningen	38	10	26,3	12	31,6	6	15,8	10	26,3		
Friesland	11	10	90,9			1	9,1				
Nederland	300	204	68	33	11	30	10	19	6,3	14	4,7

de conclusie worden getrokken, dat de schimmel vrij snel reageert op een verandering in het resistentiepatroon van de gastheerpopulatie.

Doordat de isolaties als meer-sporen-culturen rechtstreeks van aangetast blad gemaakt zijn, bestond het gevaar dat meerdere fysio's tegelijk geïsoleerd zouden worden. Uit de proeven is meermalen gebleken, dat fysio 0 „verontreinigd" was met fysio 2, 1.2 of 2.3. Dit kwam tot uiting in slechts enkele vlekken op rassen welke door laatstgenoemde fysio's konden worden aangetast. Blijkbaar worden deze fysio's sterk door fysio 0 onderdrukt.

MOEILIJKHEDEN BIJ HET DETERMINEREN VAN FYSIO'S

1. *Invloed van de uitwendige omstandigheden op het ziektebeeld*

LANGFORD (1937) wijst reeds op de variabiliteit van de symptomen onder invloed van temperatuur, luchtvochtigheid en licht. Een temperatuur lager dan 20 °C remt de ontwikkeling van de schimmel in de plant, een relatieve luchtvochtigheid minder dan 70 % onderdrukt het sporuleren. Vooral bij een lage luchtvochtigheid kan een vatbaar ras de indruk wekken resistent te zijn. Gebrek aan licht kan de werkzaamheid van een resistentiefactor gedeeltelijk te niet doen, zodat een resistent ras de indruk wekt vatbaar te zijn.

Bij de beoordeling van onze infectieproeven is in een aantal gevallen een keuze tussen de klassen 3 en 4 moeilijk geweest (zie tabel 2). De moeilijkheden traden vooral op bij de rassen V 121 (t.o.v. de fysio's 1, 2 en 1.2), Stirling Castle (t.o.v. de fysio's 2 en 2.3) en in mindere mate bij de rassen V 473 (t.o.v. de fysio's 2 en 2.3) en *L. pimpinellifolium* (t.o.v. fysio 2). Onder omstandigheden van een geringere hoeveelheid licht of die van een zeer hoge luchtvochtigheid gedurende langere tijd was het reactietype voor de genoemde gevallen soms eerder matig vatbaar dan matig resistent. Meermalen kon zelfs de reactie van het ras V 121 t.o.v. fysio 2 vergeleken worden met de vatbaarheidreactie van het ras Potentaat. Dit betekent dat de uitwendige omstandigheden bepalend zijn voor het

FIG. 1. Ziektebeeld van een zeer vatbaar ras, onderzijde van het blad.
Symptom picture of a very susceptible variety, under side of the leaf.

FIG. 2. Ziektebeeld van een matig resistent ras, onderzijde van het blad.
Symptom picture of a moderately resistant variety, under side of the leaf.

FIG. 3. Vetomold en *L. pimpinellifolium*, geïnoculeerd met fysio 2 (plant 1 en 3 van links) en met een mutant van fysio 2 (plant 2 en 4 van links); de mutant doet het blad sneller afsterven.
Vetomold and L. pimpinellifolium, *inoculated with race 2 (plant 1 and 3 from the left side) and with a mutant of race 2 (plant 2 and 4 from the left side); the mutant causes a quicker dying of the leaf.*

waarnemen van betrouwbare verschillen tussen de reactietypen. Feitelijk zouden de uitwendige omstandigheden gedurende verschillende achtereenvolgende proeven constant moeten zijn, om vergelijkingen tussen deze proeven mogelijk te maken. Het komt de betrouwbaarheid van een proef ten goede, als een „standaardreeks" wordt opgenomen, dat wil zeggen de rassen van het toetssortiment en hun reactie t.o.v. de bekende fysio's. Het maken van vergelijkingen tussen een bekend fysio en een te toetsen willekeurige isolatie is dan binnen één proef steeds mogelijk.

Zelfs onafhankelijk van de uitwendige omstandigheden kunnen bij vatbare rassen verschillen bestaan in symptomen ten opzichte van hetzelfde fysio; in sterkere mate geldt dit voor resistente rassen. Zo blijven op het ras Stirling Castle na inoculatie met fysio 2 de vlekken kleiner dan op het ras V 121; het sporuleren wordt sterker onderdrukt en op de bovenzijde van het blad zijn de gele vlekken eerder zichtbaar. Het ras V 473 heeft bij een resistentie-reactie altijd scherper begrensde vlekken dan andere resistente rassen.

2. *Inoculatieproeven op bladstekken*

Bond (1936) kon afgesneden bladeren op vochtig filtreerpapier in petrischalen in het licht ongeveer vijf weken goed houden; de bladeren maakten zelfs adventiefwortels. De symptomen van aantasting door *Cladosporium fulvum* kwamen echter niet zo duidelijk naar voren als op de bladeren van een intacte plant. Day (1951) vermeldt dat afgesneden en daarna in sterk licht gehouden bladeren van planten met een resistentiefactor na inoculatie geen symptomen te zien gaven; na verlaging van de lichtintensiteit verschenen vlekken van het resistente type. Daar de schimmel onder vrijwel alle omstandigheden het blad binnendringt (van vatbare zowel als van resistente planten), wordt de uitbreiding van de infectie blijkbaar bepaald door de hoeveelheid in het blad aanwezige assimilaten in die zin, dat ophoping hiervan de uitbreiding van de infectie tegengaat. De waarneming in de praktijk, dat na een periode van donker weer een naar voren treden van de ziektesymptomen te verwachten is, is hiermee in overeenstemming. In het eigen onderzoek werden bladeren van toetsplanten gestekt in een mengsel zand-turfmolm (1:2) en één dag na het stekken geïnoculeerd met de fysio's 0 en 2. Op blad van vatbare rassen ontstonden vlekken van het resistente type, terwijl op blad van resistente rassen nauwelijks sprake was van enige reactie. Werd de inoculatie verricht na voldoende beworteling der stekken, dan kwam bijna steeds het juiste reactie-type te voorschijn. Deze resultaten zijn in overeenstemming met de door Day gedane waarnemingen. Deze methode kan eventueel gebruikt worden als na-controle van selectiemateriaal door een proef te doen met bewortelde stekken van bladeren of van zijscheuten. Voor het normale routine-onderzoek verdient de inoculatie op de intacte plant verre de voorkeur, omdat onder deze omstandigheden de reactietypen op de plant ten opzichte van de fysio's beter tot uitdrukking komen.

Reactie van de plant op mutanten, welke in vitro zijn ontstaan

Wanneer men de schimmel van tomateblad isoleert en in reincultuur brengt, blijkt dat de variabiliteit groot is en tot uiting komt in de kleur van het mycelium, de mate van sporevorming en het vormen van mutanten; deze variabiliteit is in

belangrijke mate afhankelijk van het substraat en van de temperatuur. De kleur van de fysio's op gebruikelijke voedingsbodems zoals mout-, kers-, havermout- en aardappelglucoseagar varieert van bruin tot olijfgroen; in de voedingsbodem wordt een paars pigment afgescheiden. De mutaties in vitro zijn gemakkelijk te herkennen door een afwijkende kleur (wit, oranje, zeemkleurig) en groeiwijze (veel luchtmycelium). De mutanten welke uit culturen in vitro geïsoleerd worden, blijven bij verder kweken constant; de sporevorming der mutanten varieert van 0% tot ongeveer 50% vergeleken met die van de oorspronkelijke culturen. In het algemeen neemt bij regelmatig overenten de sporevorming der mutanten geleidelijk af.

Infectieproeven met niet-sporevormende mutanten werden reeds door LANGFORD (1937) beschreven: „a progressive necrosis of the infected tissue occurred which, on susceptible varieties, resulted in enlarging dried-out spots resembling those following inoculation with "normal strains" of the fungus under conditions of low relative humidity". In onze infectieproeven met niet-sporevormende mutanten van de fysio's 0, 1, 2, 1.2 en 3 – geïnoculeerd werd met een myceliumsuspensie – werd op het toetssortiment vrijwel steeds hetzelfde reactiespectrum verkregen als met de fysio's waarvan de mutanten afkomstig waren. Opvallend was hierbij, dat de incubatietijd van een mutant, afhankelijk van de uitwendige omstandigheden, drie tot vijf dagen korter was dan die van het oorspronkelijke fysio. De infectie door een niet-sporevormende mutant komt tot stand doordat een hyfe een huidmondje binnendringt. Het blad reageert met necrose, zowel op vatbare als op resistente planten. Op onvatbare planten werd geen reactie waargenomen; er is niet nagegaan of in deze gevallen de schimmel de plant kan binnendringen. De uitbreiding van de necrose verloopt sneller dan de uitbreiding van de infectie na inoculatie met normale fysio's (fig. 3). Op bladeren van resistente planten komt de necrose eerder tot stilstand dan op bladeren van vatbare planten. In de meeste gevallen kon de mutant opnieuw worden geïsoleerd uit stukjes blad van de scheiding tussen necrotisch en gezond weefsel. Nimmer werd geconstateerd dat een niet-sporevormende mutant op de plant sporen vormde.

Om na te gaan of de reactie, door mutanten veroorzaakt, aan een toxine kan worden toegeschreven, zijn planten gezet op een myceliumvrij filtraat van een schimmelcultuur, verkregen door een mutant op kaasdoek in moutextract te kweken en daarna te filtreren. Er werd geen reactie waargenomen, ook niet na injectie of bespuiting van de planten met een dergelijke suspensie. Injecties of bespuitingen met sap van bladeren, aangetast door een mutant, bleven eveneens zonder resultaat. De reactie op niet-sporevormende mutanten doet denken aan overgevoeligheid; deze mutanten zijn dus minder pathogeen voor de plant als geheel, maar zeer pathogeen voor de betrokken cellen die afsterven. De agressiviteit is identiek aan die der normale fysio's.

HET KWEKEN VAN RESISTENTE TOMATERASSEN EN DE RELATIE TUSSEN RESISTENTIEFACTOREN EN FYSIO'S

Bij de teelt van tomaten in verwarmde kassen wordt minder last van de ziekte ondervonden dan bij de teelt in onverwarmde kassen. Hoewel een afdoende, betrekkelijk goedkope chemische bestrijding uitvoerbaar is, komt hiervan in de praktijk dikwijls weinig terecht. Daarom zijn rassen, resistent tegen de ziekte,

een aanwinst voor het sortiment, mits alle andere eigenschappen van het nieuwe ras niet onderdoen voor die van de goede, bestaande, vatbare rassen.

Aanvankelijk is resistentie gevonden in een aantal selecties van *L. pimpinellifolium* (tabel 6); de resistentie bleek steeds dominant te zijn. LANGFORD (1937) maakte de kruising Potentaat × *L. pimpinellifolium* „Vineland strain" (Cf_2Cf_3). Hieruit werden de rassen Vetomold (Cf_2) en V 121 (Cf_3) gekweekt. Vetomold is onvatbaar voor de toen in Canada aanwezige fysio's 0 en 1. Na het optreden van fysio 2, waarvoor Vetomold vatbaar bleek te zijn, werd V 121 geïntroduceerd, die resistent is tegen dit fysio. Uit de kruising tussen genoemd wild ras en het ras Stirling Castle is het ras V 473 gekweekt, dat resistent bleek te zijn tegen het inmiddels op het algemeen verbreide ras V 121 naar voren gekomen fysio 2.3.

Het zou aannemelijker geweest zijn, als V 121 (Cf_3) aan fysio 3 de gelegenheid had gegeven zich snel te vermeerderen. BAILEY (1950) gaat uit van de veronderstelling, dat het ontstaan van een nieuw fysio geïnduceerd wordt door de introductie van een nieuw resistent ras. Hij neemt dan ook aan, dat de wilde rassen hadden moeten reageren, indien nieuw gevonden fysio's reeds eerder aanwezig geweest zouden zijn. DAY (1954) vermeldt dat het proces van agressiviteitsverandering bij de parasiet in Engeland langzamer is verlopen dan in Canada. Het is wellicht beter te zeggen „minder opvallend verlopen", doordat in Engeland cultuurrassen met resistentiegenen op kleinere schaal geteeld worden. Voor Nederland is dit in nog sterkere mate het geval.

Het ligt voor de hand aan te nemen dat de fysio's met meer dan één pathogeniteitsfactor regelmatig opnieuw zijn ontstaan, maar dat de ontwikkelingsmogelijkheden van deze fysio's door het ontbreken van specifieke selectiemedia beperkt zijn gebleven. BAILEY (1950) isoleerde fysio 1.2.3 reeds in 1940 van het ras Stirling Castle (Cf_1). Op dat moment waren slechts de rassen Stirling Castle en Vetomold (Cf_2) in de praktijk aanwezig. DAY (1954) toonde in proeven aan dat fysio's met minder pathogeniteitsfactoren fysio's met meer pathogeniteitsfactoren onderdrukken op de cotylen van een vatbaar ras, terwijl op de cotylen van een resistent ras de pathogene component werd geselecteerd. Fysio 0 oefent dus bij vatbare rassen een onderdrukkende werking uit op de overige fysio's, terwijl dergelijke krachten ook tussen deze fysio's onderling werkzaam zullen zijn. Wanneer in de praktijk deze strijd tussen de fysio's inderdaad plaats heeft, mag verwacht worden dat de samenstelling van het fysio-sortiment afhankelijk is van de aard en de frequentie van voorkomen der gastheer-genotypen. Blijkbaar behoeft dit niet steeds in overeenstemming te zijn met het gen-om-genschema, omdat in Canada fysio 2.3 zich heeft verspreid op het ras V 121 (Cf_3). De combinatie Cf_2Cf_3 was als cultuurras nog niet aanwezig. Pas na 1950 is door KERR (1951) het ras V 469 gekweekt, dat deze factoren bezit. Wel is fysio 3 het eerst van V 121 (Cf_3) geïsoleerd. Dat dit fysio zich niet heeft verspreid, kan veroorzaakt zijn door de vrijwel gelijktijdige verspreiding van het ras V 473 (Cf_1Cf_2).

Doordat fysio 1.3 nog niet gevonden is en fysio 1.2.3 zeer zelden, zou een goede resistentie in cultuurrassen verkregen kunnen worden met de combinaties Cf_1Cf_3 en $Cf_1Cf_2Cf_3$, met het gevaar dat hierdoor juist deze fysio's geselecteerd worden. Laatstgenoemde combinatie is als „breeding line" (F 101) in Canada aanwezig (KERR, 1959). KERR heeft echter een selectie uit de kruising *L. esculentum* × *L. hirsutum* gekruist met F 101 en in de nakomelingschap door zelfbestuiving twee rassen geselecteerd. Behalve de genoemde factoren bezitten deze rassen, Vinequeen en V 548, de resistentiefactor (wellicht zelfs meer factoren)

TABEL 6. Resistentiefactoren in cultuur- en wilde rassen en hun reactie ten opzichte van de fysio's van *Cladosporium fulvum*.
Genes for resistance in cultural and wild type varieties and their reaction to the races of Cladosporium fulvum.

Rassen *Varieties*	Land van herkomst *Origin*	Resistentiegenen *Genes for resistance*	Fysio's en reactietype *Races and type of reaction*							
			0	1	2	3	1.2	1.3	2.3	1.2.3
Potentaat	Canada	cf	V	V	V	V	V	V	V	V
Stirling Castle	Canada									
Antimold A	Engeland	Cf_1	R	V	R	R	V	V	R	V
Hertford Cross	Engeland									
Weibull's Immuna	Zweden	Cf_2	O	O	V	O	V	O	V	V
Single Cross I	Nederland									
Sapford's no 1	Engeland	Cf_3	R	R	R	V	R	V	V	V
Single Cross II	Nederland									
Antimold B	Engeland	Cf_1Cf_2	O	O	R	O	V	O	R	V
Vulcan	Canada									
L. pimpinellifolium	Nederland	Cf_1Cf_3	R	R	R	R	R	V	R	V
59-R	Nederland									
L. pimpinellifolium, Vineland	Canada	Cf_2Cf_3	O	O	R	O	R	O	V	V
V 469	Canada									
F 101	Canada	$Cf_1Cf_2Cf_3$	O	O	R	O	R	O	R	V
L. pimpinellifolium, 112215	Canada									
L. hirsutum	Canada		O	O	O	O	O		O	O
V 548	Canada		O	O	O	O	O	O	O	O
Vinequeen	Canada									
X, Y en Z	Nederland		O	O	O	O	O		O	O

uit *L. hirsutum*, welke factor verschillend is van de factoren uit *L. pimpinellifolium*. Doordat deze nieuwe rassen meerdere resistentiegenen bezitten, acht KERR het minder waarschijnlijk, dat nieuwe fysio's zullen ontstaan waarvoor deze rassen vatbaar zijn. *L. hirsutum* bezit een dominant gen voor onvatbaarheid en een dominant gen voor resistentie t.o.v. fysio 1.2.3 (KERR and BREWER, 1955). Het hangt af van de pathogeniteitsfactoren van de schimmel of een fysio kan ontstaan, dat de werking van de combinatie van factoren uit *L. pimpinellifolium* en *L. hirsutum* te niet kan doen. De snelheid van ontstaan zou vertraagd worden, indien dit ontstaan mede afhankelijk is van het beschikbaar zijn van de tussenprodukten tussen beide factorengroepen. Het kweken hiervan zou dan vermeden moeten worden.

Doordat in het buitenland gekweekte tomaterassen zelden voldoen onder Nederlandse teeltomstandigheden, is het noodzakelijk de in deze rassen aanwezige gunstige factoren te introduceren in de in Nederland gebruikelijke rassen.

In het eigen onderzoek, dat in 1949 werd begonnen, is uitgegaan van de kruising Potentaat · *L. pimpinellifolium* (Cf_1Cf_3). Hieruit zijn na negen generaties

zelfbestuiving zuivere lijnen geselecteerd (59-R), welke de factoren Cf_1 en Cf_3 gezamenlijk bezitten; dit bleek uit een toets met de bekende fysio's. Deze lijnen worden in 1960 op beperkte schaal in de praktijk beproefd. De kweker BRUINSMA te Naaldwijk heeft in 1959 op beperkte schaal enkele nieuwe hybriden (X, Y en Z) geïntroduceerd; één ouder is een uit Canada geïmporteerd resistent ras, dat de resistentiefactor uit *L. hirsutum* bezit. Uit een infectieproef die wij met dit materiaal deden, bleek dat deze F_1's niet worden aangetast door de fysio's 0, 1, 2, 3, 1.2 en 2.3; zeer waarschijnlijk zijn deze hybriden ook onvatbaar voor de fysio's 1.3 en 1.2.3.

In tabel 6 worden de geniteurs voor de resistentie tegen de bladvlekkenziekte vermeld (Stirling Castle, *L. pimpinellifolium* en *L. hirsutum)*, benevens enkele cultuurrassen, die als resultaat van het veredelingswerk zijn gekweekt.

DISCUSSIE

Doordat van de schimmel het geslachtelijke stadium niet bekend is, is niet na te gaan of door kruising veranderingen in de fysio-populatie kunnen optreden. DAY (1954) heeft getracht aan te tonen of dergelijke veranderingen mogelijk zijn door heterokaryose; hij is hierin echter niet geslaagd. Algemeen wordt dan ook aangenomen, dat nieuwe fysio's door mutatie ontstaan.

De wisselwerking tussen de fysio's is blijkbaar sterk afhankelijk van de resistentiefactoren die in de plant aanwezig zijn. Dit is door BAILEY (1950) waarschijnlijk gemaakt, want steeds trad een nieuw fysio sterk op de voorgrond na de introductie van een tegen het reeds aanwezige fysio resistent tomateras; dit ras fungeerde als specifiek selectiemedium voor het nieuwe fysio. BAILEY veronderstelt zelfs dat een nieuw fysio ontstaat ten gevolge van het invoeren van een nieuw, resistent tomateras. Als de fysio's onafhankelijk van een dergelijk ras zouden ontstaan, hadden deze reeds eerder op selectiemateriaal voor de veredeling of op oorspronkelijke geniteurs ontdekt moeten worden. Dit is niet gebeurd, aldus BAILEY.

Beschouwen we tabel 6, dan blijkt dat de drie selecties van *L. pimpinellifolium* hadden kunnen reageren op fysio 1.2.3, terwijl twee ervan een selectiemedium kunnen zijn voor respectievelijk de fysio's 1.3 en 2.3. Fysio 1.3 is tot op heden nog nimmer gevonden, terwijl fysio 1.2.3 slechts sporadisch is aangetroffen. Het is niet uitgesloten dat de frequentie van ontstaan van deze fysio's zeer laag is. De verklaring dat fysio 2.3 dan niet eerder gesignaleerd is, kan gezocht worden in de omstandigheid, dat het selectiemedium voor dit fysio *(L. pimpinellifolium* – Cf_2Cf_3) zeer beperkt voorkwam. Na de introductie van het cultuurras V 469 zou dit fysio op grotere schaal kunnen zijn waargenomen, terwijl het hierdoor tevens een grotere verbreidingskans heeft gekregen. Hierover zijn echter geen gegevens bekend. Wel is fysio 2.3 door BAILEY (1950) geïsoleerd van het ras V 121 (Cf_3), dat ook voor dit fysio vatbaar is.

Zowel in Engeland als in Nederland zijn tomaterassen met resistentiefactoren slechts op beperkte schaal geteeld. Het is waarschijnlijk dat hierdoor in deze landen de meer gespecialiseerde fysio's zich niet sterk konden verbreiden. Niettemin zijn de fysio's 0, 1, 2, 3, 1.2 en 2.3 zowel in Engeland als in Nederland gevonden; dit kan als een bevestiging worden opgevat van de veronderstelling, dat deze fysio's regelmatig ontstaan. Het signaleren van de fysio's is dus afhankelijk van de typen van resistentie, die in de praktijk van de tomateteelt voor-

komen. Als deze typen niet of zeer beperkt aanwezig zijn, is het waarnemen van de fysio's meer afhankelijk van het aantal monsters aangetast blad dat wordt verzameld en daarna getoetst op een toetssortiment van tomaterassen. Geschiedt dit op grote schaal, dan wordt de kans groter, dat alle fysio's kunnen worden waargenomen, ook die met een lage frequentie van ontstaan.

Hoewel de schimmel in vitro-culturen veelvuldig muteert, zijn nimmer mutanten gevonden, die wat betreft de groeiwijze, het sporuleren en de reactie op de plant overeenkwamen met de oorspronkelijke stammen.

Het eerste tegen de bladvlekkenziekte resistente tomateras dat in Nederland is geteeld, is Single Cross I (tabel 6). Deze hybride uit de kruising tussen Vetomold (Cf_2) en een vatbaar cultuurras, is in 1946 geïntroduceerd door de kweker BRUINSMA te Naaldwijk. Kort hierna kwam ook Single Cross II in de handel; de resistentie van deze hybride was afkomstig van het ras V 121 (Cf_3). Beide hybriden zijn enkele jaren op vrij grote schaal geteeld, doch na 1950 vrijwel weer uit het rassensortiment verdwenen. De fysio's 2 en 3 hebben waarschijnlijk een grotere verbreidingskans gehad in de jaren dat deze hybriden zijn geteeld. Ten tijde van ons onderzoek kwam fysio 2 beperkt en fysio 3 zeer beperkt voor. Het fysio 0 had op de algemeen geteelde vatbare cultuurrassen blijkbaar weer volledig de overhand gekregen.

Het is moeilijk te voorspellen of na de introductie in de praktijk van de hybriden X, Y en Z en van het ras 59-R spoedig nieuwe fysio's gevonden zullen worden. Vermoedelijk zal het eerst fysio 1.3 gevonden worden (op 59-R met de factor Cf_1Cf_3). De hybriden X, Y en Z ontlenen de resistentie aan *L. hirsutum*. Over de factoren voor resistentie van deze wilde soort is te weinig bekend om te kunnen voorspellen welke fysio's zich op deze hybriden zouden kunnen vermeerderen. Daarvoor is ook nog te weinig bekend van de pathogeniteitsfactoren van de schimmel.

SUMMARY

Table 1 gives a survey of the races of the fungus *Cladosporium fulvum* COOKE and the resistant genes used in breeding work. The old indications (LANGFORD, 1937; BAILEY, 1950) as well as the new ones (BUTLER, 1953; DAY, 1956) are used. The system has been suggested by DAY (1954) and may be compared with that of *Phytophthora infestans* in potatoes (BLACK, 1952).

The races 0, 1, 2, 3, 1.2 and 2.3 have been found in Canada, England and the Netherlands. Race 1.3 has not yet been observed, whereas race 1.2.3 has been found sporadically in Canada. Three varieties, with the genes Cf_1, Cf_2 and Cf_3 respectively, are sufficient to distinguish between the races.

The effect of the resistant genes is dependant on the environmental conditions to a certain extent; two varieties with the same resistant gene may give slightly different reactions under the same conditions. Therefore it is recommended that more test-varieties be used with the same resistant gene. In infection experiments the optimum temperature and relative humidity during the incubation are 22–24 °C and 80% respectively for the development of the right symptoms. Lowering of temperature and humidity results in lengthening of the incubation period. Diminishing the amount of light moves the resistant reaction to the susceptible type, lowering the humidity has the reverse effect.

In infection experiments with leaf cuttings the correct type of reaction has

only been obtained on cuttings with sufficient roots, when inoculated. This is likely to be connected with the removal of assimilates.

The incubation period of all races is 11–18 days, dependant on environmental conditions. This period is 3–5 days shorter for non-sporulating vitro-mutants; the type of reaction is the same as for the original races with the difference that spores are not formed and leaves die sooner.

The origin of new races is dependant on the growing of new resistant varieties (Bailey, 1950). Resistant varieties are less generally accepted in England than in Canada. Until 1960 similar varieties had scarcely been grown in the Netherlands. Because all races are present in England as well as in the Netherlands it is likely that the races originate regularly. On the other hand we may safely say that the spread of the races is dependant on the nature and distribution of resistant varieties. In England as well as in the Netherlands race 0 predominates.

Since 1937 varieties have been cultivated with the genes Cf_1, Cf_2, Cf_3, Cf_1Cf_2, Cf_2Cf_3 and Cf_1Cf_3 respectively. The resistance originates from the variety Stirling Castle and two selections of *Lycopersicum pimpinellifolium*. Several hybrids have been introduced in the Netherlands in 1960, which have the resistance from *L. hirsutum*.

In Canada two varieties were introduced in 1958, combining the resistance from *L. pimpinellifolium* ($Cf_1Cf_2Cf_3$ as a "breeding line") and *L. hirsutum* (Kerr, 1959 and 1957).

Kerr (1959) suggests that it is less likely that new races will originate after distribution of these varieties. This depends, however, on the pathogenic genes of the fungus.

Literatuur

Bailey, D. L., – 1950. Studies in racial trends and constancy in Cladosporium fulvum Cooke. Can. J. Res., sect. C, 28: 535–565.

Black, W., – 1952. A genetical basis for the classification of strains of Phytophthora infestans. Proc. roy. Soc. Edinburgh, sect. B, 65: 36–51.

Bond, T. E. T., - 1936. Phytophthora infestans (Mont.) de Bary and Cladosporium fulvum Cooke on varieties of tomato and potato and grafted solanaceous plants. Ann. appl. Biol. 23: 11–29.

Bond, T. E. T., – 1938. Infection experiments with Cladosporium fulvum Cooke and related species. Ann. appl. Biol. 25: 277–306.

Butler, L., – 1953. Changes in gene symbols. Rep. Tomato Genetics Cooperative 3: 7–8.

Day, P. R., – 1951. Ann. Rep. John Innes Hort. Inst.: 12–13.

Day, P. R., – 1953. Genetics and Plant Pathology. Nature 172: 989–990.

Day, P. R., – 1954. Physiologic specialisation of Cladosporium fulvum in England and Wales. Pl. Pathol. 3: 35–39.

Day, P. R., - 1956. Race names of Cladosporium fulvum. Rep. Tomato Genetics Cooperative 6: 13–14.

Kerr, E. A., – 1951. Rep. Tomato Genetics Cooperative 1: 31.

Kerr, E. A., – 1957. Vinequeen, a leaf-mold resistant tomato for the greenhouse. Rep. Hort. Exp. Sta., Vineland Sta., Ontario, for 1955 and 1956.

Kerr, E. A., – 1959. V 548, an emigrant greenhouse tomato with resistance to Cladosporium leaf mold. Rep. Hort. Exp. Sta., Vineland Sta., Ontario, for 1957 and 1958: 52–54.

Kerr, E. A., – 1960. Resistance to Cladosporium fulvum. Rep. Tomato Genetics Cooperative 10: 19–20.

Kerr, E. A. & D. Brewer, – 1955. Resistance to leaf mold (Cladosporium fulvum). Rep. Tomato Genetics Cooperative 5: 19–20.

Langford, A. N., – 1937. The parasitism of Cladosporium fulvum Cooke and the genetics of resistance to it. Can. J. Res., sect. C, 15: 108–128.

Oort, A. J. P., – 1944. Onderzoekingen over stuifbrand II. Overgevoeligheid van tarwe voor stuifbrand (Ustilago tritici). T. Pl.-ziekten 50: 73–106.

T. Pl.ziekten 66 (1960): 328–343

SUGGESTED PROCEDURES FOR INTERNATIONAL IDENTIFICATION OF LEGUME VIRUSES[1]

Mit einer Zusammenfassung: Vorgeschlagene Verfahren zur internationalen Identifikation von Leguminosenviren

Met een samenvatting: Voorgestelde methoden voor internationale identificatie van leguminosenvirussen

BY

L. Bos[2], D. J. Hagedorn[3] and L. Quantz[4]

Introduction

Virus diseases of legumes have a world-wide distribution and are of great importance in agriculture. Therefore, they are being studied in several widely-scattered research laboratories. Since much confusion exists as to their exact identity and names, a proper diagnosis of these diseases is a major problem. Thus, need is felt for more international co-operation among researchers investigating these diseases. The aims are to make an international inventory of viruses attacking legumes by isolating, characterizing, and classifying them.

For these purposes standardized procedures for studying and describing viruses are essential to reduce confusion in the literature. Therefore, the procedures outlined below are being suggested for the identification (characterization and diagnosis) of legume viruses. Many of the procedures, however, should also apply to viruses in general.

The techniques of virus transmission by means of sap inoculation, grafting and dodder species, need no further description here. For investigations on transmission via soil and/or seed no special procedure has been described. Some suggestions for insect transmission will be given here, because results obtained depend largely on the way the experiments are carried out.

There are many problems in connection with identification of viruses found in legumes in the field. The first is to isolate the virus components from a probable "virus complex" because multiple infection in legume virus diseases is not uncommon. Then detailed studies must be made to describe the isolated components.

Of importance, especially from an agricultural point of view, is the study of host range, symptomatology, influence of environment, varietal reaction and methods of transmission. Virus identification based on host plant reaction, however, cannot always be considered conclusive since symptoms often depend, among other factors, on the species or variety used and on the environmental conditions. This often makes the so called "clinical" diagnosis unreliable. Consequently, it is rarely possible to get information from some publications, espe-

[1] Accepted for publication 3 Sept., 1960.

[2] Institute of Phytopathological Research, Wageningen, the Netherlands.

[3] Department of Plant Pathology, University of Wisconsin, Madison, Wisconsin, U.S.A.

[4] Biologische Bundesanstalt, Institut für landwirtschaftliche Virusforschung, Braunschweig, Germany.

cially the older ones, on the exact identity of the viruses concerned. Greater emphasis should be laid on the study of the intrinsic characters of the viruses by physicochemical tests and especially electron microscopy and serology. They form the basis for the only so called "etiological" diagnosis. Thus far the study of these characters has been restricted to viruses which are sap transmissible in one way or another.

Insect transmission studies have a practical meaning because they provide information which may lead to eventual control of the virus disease concerned. The study of virus-vector relationships can also help to characterize the virus. Strain relationships can be estimated by means of cross-protection tests. For those viruses which are not sap transmissible, host plant reaction, insect transmission and in some cases cross protection are the only available tools for diagnosis. Fortunately, an increasing number of viruses previously considered to be only insect borne appear to be transmissible in other ways, e.g. from plant to insect vector or from insect to insect (cf. BLACK, 1955). In the extracts of plants or insects used in this way, properties of the viruses can be estimated, even by means of electron microscopy and serology.

For some surveys and bibliographies on legume viruses we may refer to the well-known general textbooks on plant viruses and to HAGEDORN & WALKER (1954), KREITLOW e.a. (1957), WEISS (1945) and ZAUMEYER & THOMAS (1957).

SEPARATION OF THE VIRUS COMPLEX FOUND IN THE FIELD

The first problem with identification of viruses found in field-grown legumes is to know whether or not the infection is of complex nature and especially to separate out any strains of cucumber mosaic virus, of alfalfa mosaic virus and/or of some tobacco viruses which can infect legumes. Some suggested differential hosts for this initial broad separation are:

Bean – *Phaseolus vulgaris* L. (e.g. variety Bountiful or Beka),
Broad bean – *Vicia faba* L.,
Pea – *Pisum sativum* L. (e.g. variety Perfected Wales, W. R. Perfection, Eroica, or Mansholt's Pluk),
Red clover – *Trifolium pratense* L.,
Cucumber – *Cucumis sativus* L. (National Pickling),
Tobacco – *Nicotiana tabacum* L. (Samsun or White Burley).

In performing this initial test also an orientation concerning the identity of the virus will be obtained. This will help in selecting an appropriate range of host plants from among the list given below. This test will provide more accurate information concerning the possible presence of virus components or strains. In some cases (e.g. to distinguish between the bean viruses 1 and 2) a quick method like the "Schalentest" (QUANTZ, 1957) may be useful.

In isolating components from a complex it might be useful to employ local lesion hosts when possible. Physical property tests are also useful sometimes, as are insect transmissibility trials. If a preparative ultracentrifuge is available, separation of components may also be achieved by means of density gradient rate or equilibrium ultracentrifugation (BRAKKE, 1953). Electrophoretic separation is also possible (BRAKKE, 1955).

Host plant reaction

Study of host plant reaction is one tool in virus identification. For those viruses which are not sap transmissible it is an essential, and, together with the study of insect vectors, one of the few available tools in diagnosis. It should be stressed that when a mixture is involved the host plant reaction, both regarding symptomatology and resistance, may be different.

Host range

Most viruses attack specific host plants. It would be very desirable to adopt, on an international basis, a recommended list of hosts (including genus, species, and variety). These species should be made available to all interested researchers. In this way investigators throughout the world would be using the same hosts and results would be more meaningful. Some suggested hosts are listed below.

Scientific Name	*Common Name*	*Variety*
Arachis hypogaea L.	Peanut	
Cicer arietinum L.	Chick Pea	
Cassia tora L.	Sickle Pod	
Crotalaria spectabilis Roth.	Showy Crotalaria	
Dolichos lablab L.	Hyacinth Bean	
Glycine soja Sieb. & Zucc.	Soy Bean	Blackhawk
Lespedeza striata (Thunb.) H. & K.	Common Lespedeza	
Lupinus albus L.	White Lupine	
Medicago sativa L.	Alfalfa (Lucerne)	
Melilotus alba Desr.	White Sweet Clover	
Phaseolus lunatus L.	Lima Bean	
Phaseolus vulgaris L.	Bean	Beka
		Bountiful
		Pinto
		Saxa or Genfer Markt
		Topcrop
Pisum sativum L.	Pea	Foli
		Juwel
		Mansholt's Pluk
		Perfected Wales
		Wisconsin Perfection
Trifolium hybridum L.	Alsike Clover	
Trifolium incarnatum L.	Crimson Clover	
Trifolium pratense L.	Red Clover	Median
Trifolium repens L.	White Clover	White Dutch
Vicia faba L. forma *minor*	Broad Bean	
Vicia sativa L.	Spring Vetch	
Vicia villosa Roth.	Hairy Vetch	
Vigna sinensis (L.) Endl.	Cowpea	Black
Chenopodium amaranticolor Coste & Reyn.		
Cucumis sativus L.	Cucumber	National Pickling
Capsicum annuum L.	Pepper	
Datura stramonium L.	Jimsonweed	
Gomphrena globosa L.	Common Globe Amaranth	
Nicotiana glutinosa L.	Clammy-leav'd Tobacco	
Nicotiana rustica L.	Aztec Tobacco	
Nicotiana tabacum L.	Turkish Tobacco	Samsun
	Burley Tobacco	Kentucky 57
Zinnia elegans Jacq.	Zinnia	

For the special benefit of researchers in warm climates it has been suggested that other tropical legumes be included such as *Cajanus indicus* SPRENG. (pigeon pea), *Canavalia ensiformis* DC. (jack bean), *Centrosema pubescens* BENTH. (butterfly pea), *Crotalaria juncea* L. (sunn hemp), and *Stizolobium deeringianum* BORT. (velvet bean).

It would be desirable to use only clones of the clovers listed because of the heterozygosity among plants within a variety, but this might not be feasible due to quarantine regulations.

Whether or not symptoms are observed after inoculation of these plants, back inoculation to a known susceptible host is necessary to make results scientifically acceptable. By means of back inoculation it is also possible to distinguish between systemic and local infections. Infection also can be checked by means of electron microscopy and serology.

Symptomatology

It would be extremely useful if a uniform system of describing symptom expressions could be adopted by all those working with legume viruses. Perhaps, definitions for terms used eventually could be devised so that everyone would know more exactly what was meant by the descriptions given. A helpful paper in this regard entitled "Symptoms of Virus Diseases in Plants" will be published soon by BOS. Symptom studies should be made at as nearly normal greenhouse temperatures as can be obtained (20–22 °C). If departure from this temperature is inevitable, researchers should so indicate. Normal illumination should also be furnished and data submitted to indicate day length and approximate number of foot candles of light available to the growing plant.

Data may be gathered on incubation period and close observation of plants should then result in the recording at the appropriate time of (1) initial symptoms, (2) "secondary" symptoms, and finally (3) typical symptoms if different from (1) or (2). Local and systemic symptoms and the over-all effect on the plant may also be noted. Notable symptoms on all plant parts should be recorded.

When symptom information is given in tabular form and abbreviations are used the following guide may be useful.

Chl = Chlorosis	Ma = Malformation	TN = Top necrosis
En = Enations	Mo = Mottle or Mosaic	VB = Vein banding
FB = Flower breaking	N = Necrosis	VC = Vein clearing
LC = Leaf curl	RS = Ring spot	WB = Witches' broom
LL = Local lesions	Str = Streak	W = Wilting
LR = Leaf roll	Stu = Stunt	Lat = Latent

Influence of environmental conditions

It is often helpful to know effects of environment, especially temperature, upon disease development and symptom expression. This holds true for studies with legume viruses as well as other plant pathogens. In studying temperature effects, plants to be tested should be grown initially at normal greenhouse temperatures (20–22 °C), inoculated at the proper stage of development[1] and then equal numbers, and 4 to 6 replicates, should if possible be placed at specific temperatures. Such temperatures as 16, 20, 24 and 28 °C may be maintained in temperature

[1] The leaves should be fully expanded but still young. It's impossible, however, to give generally acceptable directions for all viruses and all host species.

chambers of limited size or even in greenhouses. Data are then recorded in a manner similar to that described under *symptomatology*. Particular attention should be paid to incubation period and final over-all effect on the host plant.

Varietal reaction

From an agricultural point of view it is very important to know the crop varietal reaction to the viruses studied. This in certain instances can also be useful to characterize the viruses and especially virus strains. The comparison of pea and bean varietal reaction is especially useful with pea and/or bean virus strains. Such an investigation entails (1) the growing of a selected number of representative varieties of these crop plants under similar conditions, (2) inoculating them with the same inoculum at the same time, and then, (3) after a proper incubation and note-taking period, making back inoculations to a known susceptible host.

Some suggested pea and bean varieties are listed below

Peas	*Beans*
Alaska	Beka
Alderman	Bountiful
Edelperle	Genfer Markt
Eroica	Idaho Refugee
Foli	Imuna
Horal	Kentucky Wonder
Juwel	Michelite
Mansholt's Pluk	Prince
New Era	Red Kidney
Perfected Wales	Stringless Blue Lake (White seeded)
Thomas Laxton	Stringless Green Refugee
W.R. (Wis.) Perfection	Topcrop

Notes on varietal reaction may be simple or involved. In some cases enough information may be supplied if the data merely indicate whether or not a particular variety is resistant or susceptible. In other cases, for instance where strains of bean or pea viruses are being investigated, it would be helpful to make more detailed notes on how the varieties react so far as symptoms are concerned. Especially in the bean varieties it is important to note whether there is a general immunity or the virus causes a local or a systemic infection.

Physicochemical properties

Regarding the biochemical nature of the incitants of plant virus diseases, the physico- or biochemical property studies form an essential tool for the description of intrinsic properties of viruses.

There are two groups of physicochemical properties, viz.: those studied in *plant sap* and those studied in more or less *purified suspensions*. Both groups have to be distinguished.

The first group of properties is commonly known, and usually exists of tolerance to dilution, thermal inactivation and aging in vitro. They were considered to be of importance for description and classification of plant viruses by Johnson (1927) and have been described in some detail by Johnson & Grant (1932). These properties, however, are studied in sap of plants. The source plants may be different taxonomic entities, and may have been grown under different con-

ditions with the result that the virus titre is quite variable. Moreover, the properties are assayed in biological infectivity tests. Therefore the results obtained oftentimes vary considerably and thus are *rather qualitative*. Since they are often used as to their easy application, however, and since under the above restrictions they may give valuable information, the procedures will be shortly described.

In contrast to the first group of properties, in which more or less the variable host reaction is involved, the second group of properties represents more fundamental characters of the viruses themselves. Therefore, the estimation of properties such as sedimentation constant, ultraviolet absorption and other more chemical characters, in addition to serology and electron microscopy, are of great importance. So far, they cannot be easily applied for practical purposes, and in many virus laboratories facilities are still lacking. Improvement of facilities, equipment concerned, and proper interpretation of results has to be stressed.

Physicochemical properties in plant sap

To standardize procedures in using crude plant sap, juice should be taken from relatively young plants showing typical symptoms. It is important to record the environmental conditions existing during the course of the studies and to give the species, variety, age, size, etc., of the plants used for virus source and for assay. To stabilize pH and ionic activity in the virus containing plant sap, it is advisable to dilute the original plant sap 1 : 10 with 0.01 M phosphate buffer pH 7. The juice need not be pretreated in other ways, e.g., no chloroplasts removed.

It is advisable to assay the presence of virus by means of local lesion hosts in order to obtain more constant results. This is due to the fact that, e.g., with aging in vitro tests and thermal inactivation tests virus inactivation takes place more or less according to a logarithmic curve. Only very few surviving particles may fail to incite local lesions, whereas they may produce a systemic reaction. Due to the more or less asymptotic course of the logarithmic line this end point is not clear-cut but rather variable. For instance, alfalfa mosaic virus has a thermal inactivation point, according to the textbook of KENNETH SMITH, between 62 and 70 °C. From the results obtained by MILBRATH (1959) with 24 strains of this virus it is evident that the end point obtained by means of cowpea as a local lesion host is about 46 °C.

In using a local lesion host, however, the end point still depends upon the original concentration of virus particles, the sensitivity of the assay plant, and the rate of inactivation. Since the first two factors are variable and usually unknown for a given sample and a given test plant under given circumstances, YARWOOD & SYLVESTER (1959) recently suggested that the rate of inactivation in aging in vitro tests be determined by computing the half-life of the virus according to the equation:

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{T \log 2}{\log P_0 - \log P_1}.$$

In this equation P_0 = original population, P_1 = population after time T, T = interval of observation, and $t_{\frac{1}{2}}$ = time interval for half of the individuals to be inactivated, or the half-life of the population.

Instead of taking P_0, P_1, and T from the observations, it is suggested (BANCROFT, personal communication) that the logarithms of the numbers of local lesions be plotted against the time. Then one should adjust the resulting straight line statistically according to the method of least squares. The P_0, P_1, and T values are then derived from this line. In case the virus has a very long longevity one can already estimate the half-life from a part of the observations.

In indicating the end point in these physicochemical tests two critical points should be recorded. These are (1) the last point where virus activity can still be

observed, and (2) the first point where virus activity can no longer be demonstrated.

Tolerance to dilution

There are several recognized methods for preparing dilutions of plant viruses, one of which will be outlined here. Extracts from plants obtained according to the methods described above are placed in a test tube. Distilled water is put in other test tubes, 9 ml per tube. A 1 ml volumetric pipette is used to transfer 1 ml of agitated infective sap to the first of the test tubes containing 9 ml of distilled water. This solution is thoroughly mixed and another pipette is used to transfer 1 ml of this solution to the next tube of distilled water. This procedure is repeated until dilutions of 0, 1:10, 1:100, etc., up to 1:10,000,000 have been made. Inoculations with these dilutions are made to a susceptible host (if possible a local lesion host), a proper incubation period is given, and readings are made when typical symptoms appear on the control (0 dilution). More meaningful results will be obtained if the same number of plants are inoculated with each dilution. Since at higher dilutions the incubation period may be lengthened, the test plants concerned should be under observation for a longer period.

Thermal inactivation

Virus-containing plant extracts are placed in a test tube to serve as the virus reservoir. Thin-walled glass tubes are then used for holding the virus in the agitated hot water bath. The tubes often used in serology are very suitable. They have a thin wall of about 0.7 mm, an outside diameter of 10 mm, a length of 10 cm and a total capacity of about 5 ml. These tubes are filled with about one or two ml of virus-containing sap. This must be done carefully so that no plant extract is on the upper wall of the tube and therefore not immersed in the hot water. Then the tubes are placed between clips underneath the cover of the water bath. This cover is then carefully put on top of the bath with a proper temperature of the water. In doing so, the tubes are immersed in the water with a level adjusted previously to at least 3 cm above the level of the plant extract within the tubes. The technical layout may differ, but it is essential to use narrow thin-walled glass tubes.

The water bath should be well insulated so that water temperature can be accurately regulated and maintained. It is important to have adequate agitation of the water within the bath.

The tubes should be heated for 10 minutes after immersion at temperatures from 50–95 °C using intervals of 5 °C. When, from preliminary host range tests and symptomatology, some information is already known concerning the identity of the virus, the range of temperatures to be tested may often be lessened. In this case and/or after having obtained some rough information about the inactivation point in a test covering the whole range with intervals of 5 °C, a second test may be performed to estimate more exactly the thermal inactivation point by using a number of intervals of 2 °C within the range in which the exact temperature lies. However, there is no widespread agreement as to how meaningful the more precise test will be.

Immediately after the 10-minute heat treatment the tubes and contents should be quickly immersed in very cold water (flowing if possible) where they should remain until thoroughly cooled. The viruses are then rubbed into susceptible

plants (preferably local lesion hosts) of uniform age, etc., and grown under like conditions. Readings are made when typical symptoms develop on the control plants. One should again be aware of the fact that with the lower virus concentration, e.g., due to treatment at a higher temperature, the incubation period may be lengthened. This may be especially true for hosts expected to develop systemic symptoms.

Aging in vitro

The aging *in vitro* studies consist simply of storing virus containing plant extracts at room temperature (20–22 °C) in stoppered test tubes or small bottles and testing for virus infectivity after progressively longer storage periods. A geometric progression of aging times in days might go something like this: 1, 2, 4, 8, 16, 32 and 64. Perhaps, to subject a given quantity of virus to the same conditions, it would be well to store all the virus extract in the same container, and then at the appropriate times remove a certain aliquot to test infectivity by inoculating proper host plants. Again, a sufficient incubation period is given to allow symptom development; then adequate notes are taken on the ability of the virus to withstand aging. The addition of chemicals to prevent fungi and bacteria from developing should be avoided since their influence on the virus concerned is many times unknown. If they are used, proper controls to evaluate their effects must be included. When possible, researchers should avoid making comparisons with viruses tested from different host plants. Instead, in the interest of standardization, it is suggested the Perfected Wales peas be used as source plants for virus extracts to be aged.

Physicochemical properties in purified suspensions

Our knowledge of the behavior of viruses *in vitro*, and even in more or less purified suspensions outside of the plant sap, is rapidly increasing. Such investigations provide us with very helpful information for characterizing the viruses themselves. So far, however, the experiences in purifying viruses are too few to outline standardized general procedures. In view of the importance of data obtained in this way for an exact description and classification of viruses, improvement of methods of virus purification and of studying the physicochemical properties *in vitro*, cannot be emphasized enough.

A few characters which can be studied rather easily, when some simple laboratory tools are available, will be mentioned here.

An important technique for distinguishing different viruses is the rate of sedimentation through a density gradient column, according to BRAKKE (1958). This rate depends upon size, shape, and density of the virus concerned, and appears to be constant for most viruses. With the help of a simple preparative ultracentrifuge, this rate can be easily measured at low concentrations of virus in comparison to some standard like tobacco mosaic virus. For technical details we refer to the above mentioned publication.

If available, an electrophoresis apparatus may provide valuable information concerning the electric charge of virus particles and may help in estimating the iso-electric point. If no such apparatus is at hand, study of the behavior of the virus in partially purified preparations at different pH levels may give useful information.

By means of a spectrophotometer the virus protein content of a given suspen-

sion can be estimated, whereas combined phosphorus analysis may provide information as to the nucleic acid content of the virus under investigation.

Electron microscopy

Evidence obtained in virus research thus far suggests that morphology and size of virus particles are quite constant and are characteristic features of viruses. This makes electron microscopy an important tool in identifying viruses. As yet only a few legume viruses have been studied in this respect.

The virus containing plant sap can be applied on to the grids covered with a thin layer of collodion or formvar in several ways. Until now no general valuable method has been developed. Three methods will be mentioned here:

the *exudate method* (Johnson, 1948),
the *spray method* (Gold, Scott & McKinney, 1957) and
the *dip method* (Brandes, 1957).

The exudate method is still valuable but it is advisable to use a single leaf instead of a whole plant. After the drop of sap has been put on the grid it should be flattened out by blowing thereon or by using a needle (Brandes, personal communication).

The two latter methods were used and discussed by Hagedorn, Bos & van der Want (1959). Especially the dip method appears to have many advantages, such as to be very easy and to induce very little breakage of particles. No results with "spherical" particles have been obtained with any of these three methods. Presumably some purification is necessary for such viruses since plant sap contains normal protein particles which appear to be spherical.

In all these methods the grids covered with scattered virus particles can be sprayed with a suspension of about 0.01 % solids of polystyrene latex balls with a calibrated diameter of e.g. 340 mμ to serve as a standard for the magnification of the electron microscope. This is especially important for devices with electromagnetical lenses having fluent magnification in contrast with electrostatic lenses. The value of this standard is not generally accepted, however, (cf. Brandes & Paul, 1957). Instead of polystyrene latex balls it might be useful to use a virus with known length, general availability, which is easily prepared, e.g. tobacco mosaic virus. This virus could be added to the preparation concerned or photographed separately in the same series with the virus to be measured.

If in a certain laboratory no electron microscope is available, the preparations can easily be made and sent to a center where they can be shadowcast and studied by means of the electron microscope.

Particle size measurements can be made in several ways. A good technique is to project the picture (e.g. magnification × 2000) onto a screen or white wall. There the particles can be measured in mμ using flexible rulers designed for the specific magnification thus obtained. The results can be scored immediately on a mimeographed paper (Fig. 1) based on particle size frequencies of 25 mμ (e.g. 400, 425, 450, 475 mμ etc.). By this procedure a frequency curve develops at the time of measurement.

A detailed and critical description of the methods in virus measurements and a comparison of virus lengths is given by Brandes & Paul (1957). If the electron micrographs and measurements are made accurately enough, standard lengths

Virus: white clover mosaic virus Hostplant: pea 5138

Photograph 114-2 Prep.: May 12 1958-11 Measurements: June 15 1958

0																					
25																					
50																					
75																					
100																					
125																					
150																					
175																					
200	/																				
225	//																				1
250																					2
275	//																				
300																					2
325																					
350																					
375	/																				
400	𝍸																				1
425	𝍸	𝍸	𝍸																		5
450	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸															15
475	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	30
500	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	54
525	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	𝍸	41
550	//																				15
575	/																				2
600																					1
625																					
650																					
675																					
700																					
725																					
750																					
775																					
800																					
825																					
850																					
875																					
900																					
925																					
950																					
975																					
1000																					
>1000																					

Total number of particles 169

FIG. 1. Example of a suggested data sheet for recording the lengths of virus particles observed in electron micrographs. The numbers in the vertical column on the left indicate virus particle lengths in millimicrons. As particles are measured, marks are made in the appropriate spaces, and finally, totals are given in the right column.

Muster einer Liste für die Auswertung der Längenmessung an Viruspartikeln nach elektronenmikroskopischen Aufnahmen. Die Ziffern in der ersten Spalte geben die Partikellängen in mμ an. Bei der Messung der Teilchen werden die Längen in den jeweiligen Querreihen angestrichen und abschliessend in der rechten Spalte addiert.

Voorbeeld van een formulier ter weergave van de lengten van de virusdeeltjes, waargenomen in elektronenmicroscopische opnamen. De getallen in de linker kolom geven de lengten der virusdeeltjes aan in millimicrons. Tijdens het meten der deeltjes worden de lengten in de betreffende horizontale kolommen aangestreept, terwijl na afloop de totale aantallen in de rechter verticale kolom worden vermeld.

of viruses can be calculated by means of the statistical methods described in their publication.

Serology

Besides electron microscopy, serology plays an essential part in identifying viruses. For a number of legume viruses antisera are already available. Exchange of antisera will be very important in studying relationships between virus isolates found in different countries.

Since in preparing antisera different methods do not lead to fundamental differences, as far as is known, these methods need no further description here.

As to differences in behavior of different viruses it is not possible to suggest generally acceptable methods of pretreating the virus-containing plant sap and of performing the serological reactions. In many cases absorption of the antiserum with sap of healthy plants to remove antibodies against normal constituents can be avoided. Dilutions both of serum and plant sap should be made preferably with buffered saline. Proper controls of sap of diseased and of healthy plants with normal serum and buffered saline must be included.

For routine purposes sometimes the *precipitin* and the *agglutination reaction*, both on slides, have been valuable. Especially for studying quantitative relationships between viruses the precipitin reaction is most commonly used, both in tubes incubated in a waterbath or according to the *microreaction under paraffin-oil* as developed by van Slogteren (1955b). The latter method is of great value due to its easily surveyable results, and its need of very small quantities of antiserum. The *precipitin-ring* test appears to be very critical and may sometimes be more sensitive than the microreaction method, but can only be used with rather pure virus preparations.

Although the *agar-gel-diffusion method* (van Slogteren, 1955a) has certain advantages, this method is not suitable for elongated, threadlike particles. Sometimes the complement-fixation method, and the nitrogen-determination method (cf. e.g. Matthews, 1957) may be used.

To make results obtained in different laboratories more comparable, a uniform way of recording is suggested, as is indicated in the adjacent table. Data should be read after a fixed time under controlled conditions. To differentiate the observations and record the speed of reaction, results also can be read after e.g. 5, 15, 30, 60 and 90 minutes.

Cross protection

Good evidence of virus interrelationship may sometimes be obtained through the use of cross-protection tests. Using the hypothesis that strains of one and the same virus will protect the host plant against each other, appropriate host plants are inoculated with one virus and after typical systemic symptoms develop a second virus is then mechanically introduced into the systemically-infected tissue. If the viruses are related generally no signs of the presence of the second virus are observed; if they are not related, evidence that the second virus is present will become apparent.

Obviously a host must be used which develops characteristic differential symptoms upon inoculation with the two viruses under study. Especially suit-

TABLE 1. Example of recording results of a serological test.
Reaction of the Dutch isolate RK 5 and a Wisconsin isolate of the red clover vein-mosaic virus with the antiserum prepared against the Dutch isolate.
Muster für die Wiedergabe eines serologischen Testes.
Reaktion des holländischen Isolats RK 5 und eines Isolats des Rotkleeadernmosaik-Virus aus Wisconsin mit einem Antiserum gegen das holländischen Isolat.
Voorbeeld van de weergave der resultaten van een serologische proef.
Reactie van de Nederlandse isolatie RK 5 en een isolatie van het nerfmozaïekvirus van rode klaver uit Wisconsin met het antiserum bereid tegen de Nederlandse isolatie.

	Dilutions of sap of peas *Verdünnungen des Saftes von Erbsen Verduningen van sap van erwten*	Antiserum				Normal serum	Saline *Phys. Kochsalzlösung Fysiologisch zout*	
		1/4	1/16	1/64	1/256			
Dutch isolate	1/4	+++[1]	++	++	–	–	–	–
Holländisches Isolat	1/16	++	++	+	–	–	–	–
Nederlandse isolatie	1/64	–[2]	–	–	–	–	–	–
Wisconsin isolate	1/4	+++	+++	++	+	–	–	–
Isolat aus Wisconsin	1/16	++	++	+	–	–	–	–
Isolatie uit Wisconsin	1/64	–	–	–		–	–	–
Healthy pea	1/4	–	–	–	–	–	–	–
Gesunde Erbse	1/16	–	–	–	–	–	–	–
Gezonde erwt	1/64	–	–	–	–	–	–	–

[1] The number of + signs is an indication for the quantity of precipitate.
Die Anzahl + zeigt die relative Stärke des Präzipitats an.
Het aantal + tekens is een maat voor de hoeveelheid precipitaat.
[2] No precipitate.
Kein Präzipitat.
Geen precipitaat.

able for cross-protection tests are those strains inducing local necrotic lesions, a systemic necrosis or a bright mosaic on one plant species, variety or clone in contrast with the virus strains to be tested. The latter must produce a fully systemic reaction. As research progresses the number of hosts showing distinct symptoms with different strains of legume viruses and which thus may be used in cross-protection tests will increase. For example, newly discovered hosts for cross-protection tests with strains of bean virus 2 are *Crotalaria spectabilis* ROTH. (CORBETT, 1957) and red clover *(Trifolium pratense* L.) clone KyC 71-8 (DIACHUN & HENSON, 1958a, 1958b).

INSECT TRANSMISSION

For distinguishing the characteristic features of legume viruses it is also useful to determine whether the virus is insect transmissible and, if so, to identify the vector(s) and to determine the insect-virus relationship. It is essential to know the genus and species of the insects which are capable of transmitting a given virus. Likewise, it should be discovered whether the virus is persistent or non-persistent and the relative ease of transmission, as determined by the characteristics indicated below, should also be studied.

Acquisition time[1]*:* Period of time that a noninfective vector is fed on or has access to a virus source.

Acquisition threshold: Minimum time necessary for a vector to feed upon or to have access to a source in order to transmit the virus.

Inoculation time[1]*:* Time the vector feeds upon or has access to the healthy host.

Inoculation threshold: Minimum time necessary for a viruliferous insect to feed upon or to have access to a healthy plant in order to transmit the virus.

Latent period: Common term used to denote the time that elapses before a vector can be demonstrated to be infective after the acquisition threshold.

Aphid transmission tests should be made as soon as possible after the virus has been obtained from the field because continued mechanical transmission may definitely affect aphid transmissibility.

The experiments should be conducted by using aphids or leafhoppers which are believed to be the most effective vectors of the virus under investigation. Good vectors are in general *Myzus persicae* SULZ., *Acyrthosiphon pisum* HARRIS *(A. onobrychis* B.D.F.) and *Macrosiphum solanifolii* ASHM.

In the following paragraphs some suggested procedures for the use of ophids are outlined.

Determining acquisition threshold

Nonviruliferous mature aptera are starved for 4–8 hours and placed on virus-infected plants. One aphid per plant is used and acquisition feeding periods of 15 seconds (if possible), 1 minute, 5 minutes, and 1 hour, are timed with a watch. Timing is begun as soon as the aphid puts its proboscis in a permanent feeding position on the plant. By observing the proboscis under a 12× hand lens, it can be determined when it becomes permanently stationary. Many times a few preliminary probes are made of about 10–15 seconds duration. One cannot be sure whether or not the insect has fed unless positive transmission results are obtained. For longer acquisition feeding periods, such as 4, 8 and 24 hours, 10–15 aphids per plant are placed on infected plants for these times, so the exact period is not known. This could be more clearly defined by using the first described technique.

After the acquisition time the aphids are moved to healthy test plants for the inoculation time of 24 hours after which they are killed with an aphicide.

Determining inoculation threshold

Aphids which have had an optimal acquisition time on infected plants are given inoculation times of 1, 5, 10 and 20 minutes and maybe even 1, 4, 8, 24 and 48 hours. Five aphids are placed on each healthy plant and the period is timed in a manner similar to that described above. After the test the aphids are killed.

Studying starvation effect

Aphids are starved for 4–8 hours and allowed to feed on diseased plants for 1 minute and 5 minutes, after which they are given an inoculation feeding period

[1] Since recent investigations indicate that nonpersistent viruses may be transmitted only after probing or puncturing by a vector, the often used terms "acquisition feeding" and "inoculation feeding" may only hold for persistent viruses.

of 24 hours on healthy plants before being destroyed. A similar experiment using unstarved aphids must be performed for comparison.

Results are obtained after sufficient time has elapsed for typical symptoms to develop.

Remember – in handling aphids, use a moistened, fine, camel's hair brush, and tease, don't force, the aphid loose from its feeding station.

Conclusion

Experimental results obtained anywhere by carefully using the procedures described above should be more easily comparable. Exchange of these results and especially of antisera and of results obtained by means of electron microscopy are highly recommended. On this basis an international inventory of legume viruses and a tentative grouping of them may be possible.

For these purposes a closer international co-operation between specialists working on the group of legume viruses is suggested. Such an international co-operation and exchange of material and results will be the only real basis for tackling problems concerning classification, nomenclature and identification of plant viruses in general.

Publications on supposed new viruses should be based on the procedures described here so as to present as much evidence as possible that the virus differs from those already described. In this way future added confusion in literature will be greatly reduced.

In old legume virus publications description was on a less scientific basis; so many times the relationship between the viruses under investigation more recently and those described earlier cannot be established accurately. Therefore, the use of old names of viruses should be avoided unless good evidence is obtained that they are currently applicable.

It is important to preserve cultures of originally-described virus so that they are always available as type material. Preferably the virus material should be preserved by cool-drying – finely-cut plant material placed in dessicators over anhydrous calcium chloride at about 4 °C and stored under the same conditions.

Summary

The importance and need for standardized procedures in the international identification (description and diagnosis) of legume viruses is pointed out and suggestions are given to aid in this accomplishment. Outlines of techniques for using common methods such as host range studies, symptomatology, physical properties tests, cross-protection tests and insect transmission data are presented. Likewise, suggestions are given for the use of some of the newer approaches including physicochemical property studies, serology, and electron microscopy. The importance of these latter studies for virus characterization is emphasized. Some proposals for the uniform recording of results have been put forward. Most of the procedures may also be useful for the identification of viruses in general.

Zusammenfassung

Die internationale Bedeutung der Untersuchungen über Viruskrankheiten an Leguminosen macht die Anwendung einheitlicher, vergleichbarer Methoden zur

Virusbeschreibung notwendig. Unter diesem Gesichtspunkt werden daher Methoden zur Untersuchung der Wirtspflanzenkreise, der Symptomatologie, der Insektenübertragung, der Prämunität sowie der chemo-physikalischen, serologischen und elektronenmikroskopischen Merkmale zusammengestellt. In der Literatur ist vielfach eine Unsicherheit über die Identität der Erreger von Viruskrankheiten anzutreffen; daher wird besonderer Nachdruck auf die letztgenannten Methoden gelegt, die wesentliche Eigenschaften der Viren selbst erfassen und nicht auf die veränderliche Reaktion der Wirtspflanzen zurückgehen. Diese Arbeitsmethoden, die zumeist auch allgemein für weitere Pflanzenviren Gültigkeit besitzen, bieten eine gute Basis für die vergleichende Virusbeschreibung und damit die Voraussetzung für eine allgemeine Virusklassifikation wie auch für die praktische Virusdiagnose. Für diese Arbeiten ist die internationale Zusammenarbeit durch Austausch von Antiseren, Saatgut usw. zu verstärken.

Eine Anzahl wertvoller Hinweise zu diesem Beitrag kamen von Fachkollegen aus allen Teilen der Welt, denen das Manuskript vorher übersandt worden war.

Samenvatting

Met het oog op de internationale betekenis van het onderzoek over virusziekten van vlinderbloemigen wordt gewezen op de grote waarde van en de behoefte aan gestandaardiseerde, internationaal aanvaarde en toegepaste methoden ter identificatie (karakterisering en herkenning) van de bij deze plantesoorten en gewassen voorkomende virussen.

In deze publikatie worden de technieken geschetst ter bepaling van de waardplantenreeks en ter bestudering van de symptomatiek, de fysische eigenschappen, premunitie en overdracht door insekten der onderhavige virussen. Tevens worden suggesties gegeven voor de toepassing van nieuwere methoden van onderzoek, zoals die ter bestudering van de fysisch-chemische eigenschappen, de serologie en de elektronenmicroscopie. Enige uniforme wijzen van vermelding van de resultaten van onderzoek worden voorgesteld.

Het manuscript van deze bijdrage is beoordeeld door collega's in verscheidene delen der wereld en op grond van ontvangen suggesties aangevuld met een aantal waardevolle opmerkingen.

Het merendeel der in het rapport beschreven werkwijzen wordt van waarde geacht voor de beschrijving van plantevirussen in het algemeen. In de virusliteratuur bestaat veel verwarring wat betreft de juiste identiteit der verwekkers van virusziekten. Daarom wordt in deze bijdrage vooral de nadruk gelegd op de laatstgenoemde aspecten van het virusonderzoek ter omschrijving van intrinsieke viruseigenschappen. Deze eigenschappen vormen de betrouwbaarste basis voor de karakterisering en beschrijving van virussen, daar ze betrekking hebben op de virussen zelf en niet op de veranderlijke reactie der waardplant. Meer fundamenteel onderzoek over deze methoden van virusbeschrijving wordt dan ook van wetenschappelijke betekenis geacht voor een algemene virusclassificatie en van grote praktische betekenis voor een daarop berustende etiologische diagnostiek.

Acknowledgements

The authors gratefully acknowledge the encouraging letters and helpful suggestions provided by interested colleagues from many parts of the world. Space does not permit listing the names of all, but special thanks are expressed to Dr.

J. P. H. VAN DER WANT, Lisse, The Netherlands, who helped conceive this undertaking; and to Dr. J. B. BANCROFT, Lafayette, Indiana, U.S.A.; Dr. J. BRANDES, Braunschweig, Germany; Dr. R. W. FULTON, Madison, WIS., U.S.A.; Dr. A. J. GIBBS, Harpenden, England; Dr. A. H. GOLD, Berkeley, California, U.S.A.; Dr. M. J. PRATT, Vancouver, Canada; Dr. G. ROLAND, Gembloux, Belgium; Dr. K. G. SWENSON, Corvallis, Oregon, U.S.A.; and Dr. R. S. VASUDEVA, New Dehli, India, for their helpful suggestions.

REFERENCES

BLACK, L. M., – 1955. Concepts and problems concerning purification of labile insect-transmitted plant viruses. Phytopathology 45: 208–216.

BOS, L., – Symptoms of virus diseases in plants. (Manuscript).

BRAKKE, M. K., – 1953. Zonal separations by density-gradient centrifugation. Arch. Biochem. Biophys. 45: 275–290.

BRAKKE, M. K., – 1955. Zone electrophoresis of dyes, proteins and viruses in density-gradient columns of sucrose solutions. Arch. Biochem. Biophys. 55: 175–190.

BRAKKE, M. K., – 1958. Estimation of sedimentation constants of viruses by density-gradient centrifugation. Virology 6: 96–114.

BRANDES, J., – 1957. Eine elektronenmikroskopische Schnellmethode zum Nachweis faden- und stäbchenförmiger Viren, insbesondere in Kartoffeldunkelkeimen. Nachr.-Bl. dtsch. Pfl.-Sch.-D. (Braunschweig) 9: 151–152.

BRANDES, J. & H. L. PAUL, – 1957. Das Elektronenmikroskop als Hilfsmittel bei der Diagnose pflanzlicher Virosen. Untersuchungen über die Vermessung faden- und stäbchenförmiger Virusteilchen. Arch. Mikrobiol. 26: 358–368.

CORBETT, M. K., – 1957. Local lesions and cross-protection studies with bean yellow mosaic virus. Phytopathology 47: 573–574.

DIACHUN, S. & L. HENSON, – 1958a. Red clover clones as local lesion hosts for bean yellow mosaic virus. Phytopathology 48: 369–371.

DIACHUN, S. & L. HENSON, – 1958b. Protection tests with clones of red clover as an aid in identifying isolates of bean yellow mosaic virus. Phytopathology 48: 697–698.

GOLD, A. H., H. A. SCOTT & H. A. MCKINNEY, – 1957. Electron microscopy of several viruses occurring in wheat and other monocots. Plant Disease Reptr. 41: 250–253.

HAGEDORN, D. J., L. BOS & J. P. H. VAN DER WANT, – 1959. The red clover vein mosaic virus in the Netherlands. T. Pl.-ziekten 65: 13–23.

HAGEDORN, D. J. & J. C. WALKER, – 1954. Virus diseases of canning peas in Wisconsin. Univ. Wisconsin Res. Bull. 185.

JOHNSON, J., – 1927. The classification of plant viruses. Agr. Exp. Sta. Univ. Wisconsin, Res. Bull. 76.

JOHNSON, J., – 1948. Plant virus for electron microscopy. Science 108: 122.

JOHNSON, J. & T. J. GRANT, – 1932. The properties of plant viruses from different host species. Phytopathology 22: 741–757.

KREITLOW, K. W., H. C. BOYD, D. W. CHAMBERLAIN & J. M. DUNLEAVY, – 1957. A bibliography of viruses infecting the soybean (Glycine max (L.) Merr.). Plant Disease Reptr. 41: 579–588.

MATTHEWS, R. E. F., – 1957. Plant virus serology. London.

MILBRATH, J. A., – 1959. Thermal inactivation of alfalfa mosaic virus in vitro. (Abstr.) Phytopathology 49: 546.

QUANTZ, L., – 1957. Ein Schalentest zum Schnellnachweis des gewöhnlichen Bohnenmosaikvirus (Phaseolus-Virus 1). Nachr.-Bl. dtsch. Pfl.-Sch.-D. (Braunschweig) 9: 71–74.

SLOGTEREN, D. H. M. VAN, – 1955. Serological analysis of some plant viruses with the gel-diffusion method. Proc. 2nd Conf. Potato Virus Diseases, Lisse-Wageningen 1954: 45–50.

SLOGTEREN, D. H. M. VAN, – 1955. Serological microreactions with plant viruses under paraffin oil. Proc. 2nd Conf. Potato Virus Diseases, Lisse-Wageningen 1954: 51–54.

WEISS, F., – 1945. Viruses described primarily on leguminous, vegetable and forage crops. Plant Disease Reptr. Suppl. 154.

YARWOOD, C. E. & E. S. SYLVESTER, – 1959. The half-life concept of longevity of plant pathogens. Plant Disease Reptr. 43: 125–128.

ZAUMEYER, W. J. & H. R. THOMAS, – 1957. A monographic study of bean diseases and methods for their control. U. S. D. A. Techn. Bull. 868.

T. Pl.ziekten 66 (1960): 344–349

A DESTRUCTIVE VIRUS DISEASE OF PANGOLA-GRASS[1]

Met een samenvatting: Een virusziekte van Pangola-gras

BY

J. G. P. DIRVEN[2] and H. A. VAN HOOF[3]

INTRODUCTION

Pangola-grass (*Digitaria decumbens* STENT.) grows very well under Surinam conditions. As it is at the same time a very good pasture-grass (APPELMAN & DIRVEN, 1959), some hundreds of acres have been planted since its introduction in 1951. Due to the fact that extensive plantings in Florida, the Caribbean Islands and Central- and South-America have all originated from the vegetative propagation of 3 to 5 plants imported into Florida in 1940, there is danger, according to WHYTE (1959), that the lack of hereditary variation will increase the incidence of diseases and pests.

Since its introduction to Surinam, pangola-grass has been troubled by serious attacks of army-worms (*Laphygma frugiperda* A. & S. and *Mocis repanda* F.) and slugs (*Homalonyx unguis* D'ORB.). These pests may at times seriously depress yields, but can be controlled with Aldrin and HCH respectively. The fungus *Mycosphaerella tassiana* (DE NOT.) JOH.[4] is often present, especially on the older leaves.[5] The losses caused by this fungus can be limited by rotational grazing. Since the extremely dry years of 1957 and 1958 chinch bugs (*Blissus leucopterus* SAY) and Rhodes grass scales (*Antonina graminis* MASKELL) have also been serious pests (VAN DOESBURG, 1959). During the rainy season, however, these insects decrease drastically in number.

During the last three years a dying-off of the grass has been noticed for which no direct cause was detectable. This paper describes the symptoms of this disease and also experiments which show that the disease is due to a virus, transmitted by a delphacid vector.

DESCRIPTION OF THE DISEASE

The presence of stunt disease in pangola-grass pastures is first indicated by slower recovery of affected plants following mowing or grazing. The vigour of growth is greatly reduced and other grasses and leafy weeds establish themselves on the affected areas. This is very abnormal for the aggressive pangola. On well drained clay soils pangola is replaced by *Cynodon dactylon* (L.) PERS., *Sporobo-*

[1] Accepted for publication 19 sept., 1960.

[2] Agronomist of the Foundation for Mechanized Agriculture in Surinam.

[3] Virologist of the Agricultural Experiment Station, Paramaribo, Surinam.

[4] Identified by Dr. J. A. VON ARX, Central Bureau for Fungus Culture, Baarn, The Netherlands.

[5] The shape of the leaf spots is very irregular; they are grey coloured, elongated parallel to the midrib and measure up to 1 cm. They are red zoned. The perithecia are mostly situated under the upper epidermis. The spores measure 20 × 3,6 μ. We also observed the fungus on pangola when visiting Cuba in August 1959.

FIG. 1. Field symptoms of the disease. At left: healthy plant with long stolone, overgrowing a diseased patch.
Veldsymptomen van de ziekte. Links een gezonde plant met lange uitloper, die een zieke plek overgroeit.

FIG. 2. Detail of diseased shoot, showing deformations of the leaves, youngest leaf rolled and twisted (outmost left) and abnormal branching.
Detail van een zieke stengel met misvormde bladeren en abnormale vertakking, terwijl het jongste blad (uiterst links) opgerold en gedraaid is.

FIG. 3. Severely diseased pangola-plant, four months after the insects were placed on it. At right: Healthy control.
Ernstig zieke pangola-plant, vier maanden nadat er insekten op geplaatst waren. Rechts: gezonde controle-plant.

lus indicus (L.) R.Br. and *Sp. poiretti* (Roem & Schult.) Hitchc., on sandy soils of the young coastal plain by *Axonopus compressus* (Sw.) Beauv. and *Alternanthera sessilis* (L.) R.Br. and on the loamy sand soils of the old coastal plain by *Panicum laxum* Sw. Although pangola is rather drought-resistant, patches of dead grass appear in the fields, especially in the dry season. Among the diseased plants which cease to form long runners, one can frequently observe well-grown plants with long runners. Diseased plants are easily torn off at soil-level by grazing animals. The disease spreads only slowly.

Even a moderate degree of infection may result in a lower yield than that of native grasses on the same type of soil. The yield can be depressed by 50% or more.

The first effect of the disease becomes evident in diminished growth. The length of the internodes, which in healthy plants may reach more than 6 cm, is rarely more than 1 cm in diseased plants. The following table, which compares the sizes of 100 internodes from diseased and healthy plants 4 weeks old, illustrates this difference clearly.

Table 1. Length of 100 internodes of healthy and diseased pangola-grass.
Lengte van 100 internodiën van gezond en ziek pangola-gras.

Length class in cm *Lengteklasse in cm*	Frequency *Frequentie*	
	Healthy *Gezond*	Diseased *Ziek*
0–1	5	61
1–2	19	37
2–3	27	2
3–4	21	
4–5	13	
5–6	10	
6 and more	5	

As a direct consequence of the shortening of the internodes, coupled with abnormal and repeated branching, the plant acquires a tufted appearance (fig. 1). The leaves are very short and irregular in shape. The youngest leaf, which is at first rolled up, emerges curved; even after unfolding it remains warped and the tip is more or less obtuse. The colour of the leaves, which in healthy plants is green (5 GY 4/4–4/6, according to Munsell Soil Color Charts) is changed into dark yellowish (5 GY 6/6–6/8), while quite frequently parts of the leaves appear yellow-green to yellow and the tips of the leaves weak red (7,5 R 5/4). These phenomena are not caused by a deficiency disease, as the symptoms appear simultaneously on different soil types, the disease does not disappear after fertilization with macro or micro elements, and growth may be healthy again after plowing. Furthermore, when diseased root and stem cuttings are propagated in good soil, they produce only diseased plants. The above mentioned symptoms, therefore, led us to suspect a virus disease. It is well-known that virus diseases transmitted by Jassids and Delphacids may cause stunted growth. For that reason we determined which species of these insects occurred on pangola.

The insects caught in 20 sweeps of approximately 1 meter with a catching net with an opening of 50 cm × 20 cm have been identified.[1] That a very great number of Jassids can be found on pangola-grass is evident from table 2.

TABLE 2. Jassids and Delphacids caught with an insect net on pangola.
Jassiden en Delphaciden, die in 20 slagen met een insektenet op pangola-gras gevangen werden.

	Paramaribo		Lelydorp (25 km South of Paramaribo)
	1–7–59	10–2–60	28–9–59
Jassids			
Hortensia similis WALKER	685	20	535
Carneocephala sagittifera UHLER .	286	11	133
Plesiommata mollicella FOWLER . .	85	57	584
Graminella cognita CALDWELL . .	344	66	544
Stirellus picinus BERG	36	5	1
Deltocephalus flavicosta STAL. . . .	4	–	1
Deltocephalus marginellus METC. . .	6	–	–
Protalebrella brasiliensis BAKER . .	–	–	1
Draeculacephala clypeata OSBORN .	117	–	1
Delphacids (only males could be identified)			
Sogata furcifera HORVATH	7	8	5
Sogata cubana CRAWFORD	3	–	–

With 20 sweeps one catches insects on an area of approximately 10 m². Should one calculate the number of insects per ha, it would certainly reach millions, especially since the numbers in the above table relate to adults only. On 30 farms where we caught insects, other Jassids and Delphacids than those mentioned were sometimes present. *Sogata furcifera*, however, was never absent, although it varied considerably in number. The number of males of this species caught in 20 sweeps varied between 1 and 39.

Taking into account that this insect was found on all pangola pastures it was decided to test it first in transmission experiments. It was felt also that the relatively small numbers of this species as compared with some others made it perhaps a more likely vector, bearing in mind the relatively slow spread of the disease.

EXPERIMENTAL TRANSMISSION OF THE DISEASE

Healthy planting material and virus-free *Sogata furcifera* were obtained from a small isolated plot on which no symptoms of the disease could be observed. At the conclusion of the experiments the grass on this plot remained healthy. Stem cuttings from diseased plants in other fields were used as a virus source. These cuttings rooted rapidly under plastic, while the symptom picture remained unchanged. Virus-free *Sogata furcifera* were placed upon diseased

[1] Identified by J. P. KRAMER, U.S. Dept. of Agr., Agr. Res. Service, Entom. Res. Div., BELTSVILLE, Maryland.

plants for 3 to 10 days under cover and were afterwards transferred to healthy cuttings. In other tests *Sogata furcifera* which had been raised on diseased plants were used. The insects always remained on the test plants for several weeks. As controls, stem cuttings from healthy plants were used on which virus-free *Sogata furcifera* were fed. No virus symptoms were ever observed on this control group. This proves that the insects we considered virus-free were indeed non-infective. For results of these experiments see table 3.

TABLE 3. Transmission of pangola-grass stunt virus by *Sogata furcifera*.
Overbrenging van het virus van pangola-gras door Sogata furcifera.

Number of insects used *Aantal gebruikte insekten*	Period on virus source *Duur van verblijf op virusbron*	Number of diseased plants *Aantal zieke planten*	Number of plants tested *Aantal getoetste planten*
many/*vele*	3 days/*3 dagen*	8	8
many/*vele*	0 days/*0 dagen*	0	6
15	bred on diseased plants *op zieke planten gekweekt*	2	7
12	bred on diseased plants *op zieke planten gekweekt*	6	7
20	0 days/*0 dagen*	0	9
15	10 days/*10 dagen*	8	8

A considerable time elapsed before the first symptoms of the disease were observed. Only after two months did the youngest leaves begin to be lighter in colour. Later the youngest, not yet unfurled leaf, started to curl and remained irregular in shape even after its elongation. Further development of the disease symptoms was also very slow; the internodes gradually became shorter and many axillary shoots started to develop (figs. 2 and 3). The symptoms described were more conspicious on new growth following mowing than on older uncut growth.

CULTIVATION PRACTICES

Since some vigorously growing healthy plants always occurred among the diseased plants in a pasture, an effort was made to see whether or not affected pastures could be renovated by plowing. After plowing the healthy plants multiply rapidly, while the diseased plants have no strength left for further growth. It was found that in cases of moderately diseased pastures a fine stand could be obtained in this way as indicated by the yield determination of experimental 50 m² plots (table 4).

TABLE 4. Yield of moderately diseased pangola pasture, three months after plowing.
Opbrengst van een matig zieke pangola-weide, drie maanden nadat ze geploegd werd.

	Fresh grass in kg/ha *Vers gras in kg/ha*	Percentage dry matter *Percentage droge stof*	Dry matter in kg/ha *Droge stof in kg/ha*
Field 1/*Veld 1*	22,000	17.8	3,952
Field 2/*Veld 2*	21,600	19.5	4,214

The yields shown in the table are again excellent ones. Nevertheless after the first cutting productivity declines, the development of runners is slow and the symptoms of the disease can be noticed again all over the field. It is only because of the rapid growth of the healthy grass plants and the prolonged incubation period of the virus that it is possible to obtain temporarily productive grasslands, once the disease has appeared. In seriously diseased pastures, on the other hand, the recovery rate was alwyas too slow to make plowing worth while.

Because of this disease the distribution of planting material of pangola-grass has been discontinued for the time. Attempts are being made to obtain new oecotypes of pangola, which may possibly be resistant to the disease.

Of the two forms of *Digitaria pentzii*, No. S.R. 908 and No. S.R. 924, imported from Trinidad (I.C.T.A.), No. 924 proved to be susceptible to the virus, whereas No. 908 has until now remained free from symptoms. Furthermore we shall proceed to distribute planting material of *Brachiaria brizantha* (HOECHST) STAPF. and *B. decumbens* STAPF. which appear to be resistant to the virus.

CONCLUSIONS

As the symptoms of this disease have been observed on plots separated by considerable distances and as we also found healthy plots, it seems highly probable that in Surinam the virus has hosts among the natural vegetation. That the disease has been spread only by the distribution of diseased planting material seems less probable, as the disease does not appear to be more acute on fields where the planting material originated, than on others. In view of the serious nature of this disease, especially during the dry season, it can be expected that the damage in areas with rainfall below the Surinam average of 2285 mm per year (at Parmaribo) will be more severe than in the higher rainfall areas.

SUMMARY

In Surinam a destructive stunt virus disease has appeared in pangola-grass during the last three years. The symptoms are described and also experiments proving that the delphacid *Sogata furcifera* HORVATH is a vector of the disease. It seems possible that the virus may be present in symptomless wild grasses, because even in isolated fields the disease often starts after a period of healthy growth. The best control for this disease is the planting of other grasses resistant to the virus.

SAMENVATTING

De laatste jaren treedt in Suriname op pangola-gras een slechte groei en een sterfte op, waarvoor geen directe oorzaak viel aan te wijzen. In een weide bemerkt men eerst, dat de nieuwe groei van het gras na afmaaien of afgrazen zeer traag verloopt. De groeikracht is zo sterk afgenomen, dat andere grassen en onkruiden dit normaliter agressieve gras verdringen. Gedurende de droge tijd ontstaan dode plekken in het weiland, hoewel pangola-gras tamelijk droogte-

resistent is. Tussen deze dode planten worden vaak nog gezonde, goed groeiende planten met lange uitlopers waargenomen. De slechte plekken in het weiland breiden zich langzaam uit.

De opbrengst van een matig aangetast weiland daalt met 50 procent of meer. Bij de zieke planten valt allereerst de geringe lengtegroei op. De internodiën – bij een gezond gras meestal meerdere cm lang – worden korter dan 1 cm (tabel 1). De planten zijn bovendien abnormaal vertakt, waardoor een bossig uiterlijk ontstaat (fig. 1). De bladlengte neemt af en de bladvorm wordt onregelmatig en gaat krommingen vertonen (fig. 2 en 3). De symptomen doen aan een virusziekte denken. Bemesting met sporenelementen gaf geen verbetering.

Uit de volgende proeven bleek, dat de ziekte inderdaad door een virus wordt veroorzaakt. Op weilanden met zieke pangola werden insekten gevangen (tabel 2). Omdat wij een keuze uit de verschillende soorten moesten maken, en *Sogata furcifera* in alle vangsten aanwezig was, werd besloten overbrengingsproeven met dit insekt uit te voeren. Gezond plantmateriaal werd verzameld op een plaats, waar het gras geen afwijkingen vertoonde. Ook na afloop van onze proeven kwam de ziekte daar nog niet voor. Op dit veld werd ook *Sogata furcifera* gevangen, die, op gezonde planten geplaatst, geen afwijkingen veroorzaakte. Werden ze echter eerst op zieke pangola-planten gezet en daarna op gezonde, dan werden de laatste na verloop van enige tijd ziek (tabel 3); de eerste ziektesymptomen traden pas na twee maanden op. Zijn de planten al oud en heeft in de pot niet veel lengtegroei meer plaats, dan ontstaat het ziektebeeld pas na afsnijden op de jonge uitlopers.

Ploegen van matig aangetaste graslanden geeft een zeer goede eerste snede (tabel 4); het uitlopen hierna geschiedt echter traag en de ziekte blijkt weer op te treden.

Van twee uit Trinidad geïmporteerde vormen van *Digitaria pentzii* bleef er één tot nu toe vrij van de ziekte. Voordat echter een voor de praktijk bruikbare resistente *Digitaria* gevonden zal zijn, wordt overgegaan tot vervroegde uitgifte van enige veelbelovende, voor dit virus onvatbare grassen. Aangezien het virus gevonden werd op ver uit elkaar gelegen percelen die aanvankelijk gezond waren, lijkt het waarschijnlijk, dat in Suriname waardplanten tussen de inheemse grassoorten voorkomen.

References

Appelman, H. & J. G. P. Dirven, – 1959. Melkproductie op pangola-gras (Digitaria decumbens Stent.). (Milk production on pangola-grass). Surinaamse Landb. 7:21–38.

Doesburg, P. H. van, – 1959. Jaarverslag 1958. Landbouwproefstation Suriname: 72.

Whyte, R. O., – 1959. Report of the Fourth F.A.O. Inter-American Meeting on Livestock Production, 22 July–1 Aug. 1958, Kingston, Jamaica. B.W.I.: 66.

Plant Pathology, an advanced treatise. Onder redactie van J. G. HORSFALL and A. E. DIMOND, 3 delen, 674 + 715 + 675 p. Acad. Press, New York/London, 1959–1960. Prijs $ 22.– per deel.

Het doel van dit boek is een synthese te geven van de verschillende onderdelen van de fytopathologie. Een behandeling van afzonderlijke ziekten en hun bestrijding zal men er dan ook tevergeefs in zoeken. Het is volgens de redactie bestemd voor de scheppende onderzoeker en niet voor de beginnende student. Men zou het kunnen vergelijken met GÄUMANN's „Infektionslehre" en STAKMAN en HARRAR's „Principles of Plant Pathology". De opzet van HORSFALL en DIMOND's trilogie is evenwel veel ruimer, waardoor vele belangrijke facetten van de fytopathologie beter tot hun recht komen. Voor de wijze waarop dit is uitgewerkt dient men de grootste bewondering te hebben. Met de enorme uitbreiding van onze kennis op het gebied van de fytopathologie zowel in de diepte als in de breedte en met de steeds verder gaande specialisatie binnen dit vakgebied wordt het tegelijkertijd steeds moeilijker het geheel te overzien. Het getuigt dan ook van grote moed een dergelijk werk te ondernemen en wij kunnen de redacteuren niet dankbaar genoeg zijn voor hun initiatief.

Het is uiteraard niet wel mogelijk een dergelijk boek alleen te schrijven. HORSFALL en DIMOND hebben dit ingezien en zich dan ook van de medewerking van een groot aantal specialisten uit alle delen van de wereld weten te verzekeren. Aan de samenstelling van de 44 hoofdstukken hebben in totaal 48 personen uit 13 verschillende landen deelgenomen.

Het is uitgesloten de drie delen hier geheel te bespreken, laat staan daarop kritiek uit te oefenen. Eerst bij een diepergaande studie of een regelmatig raadplegen zal blijken welke merites dit boek heeft en welke leemten. Uit een oppervlakkige bestudering blijkt evenwel zonder meer dat we met een waardevol boek te maken hebben, hetgeen gezien de lijst van vooraanstaande medewerkers ook wel te verwachten was. Zonder twijfel zal het zeer stimulerend werken op het verdere onderzoek.

De drie delen behandelen respectievelijk: 1, de zieke plant; 2, het pathogeen en 3, de zieke populatie, epidemieën en bestrijding. In ieder deel geeft het eerste hoofdstuk – geschreven door HORSFALL en DIMOND – een verantwoording van de gevolgde indeling.

In deel 1, handelende over de zieke plant, vinden wij na het inleidende hoofdstuk in hoofdstuk 2 een zeer goed overzicht van de hand van Dr. J. G. TEN HOUTEN over het gebied dat de fytopathologie bestrijkt, zijn plaats te midden van de andere wetenschappen en zijn betekenis voor de menselijke samenleving. Hoofdstuk 3 behandelt de geschiedenis van de fytopathologie en 4 gaat over de mate van ziek zijn en het verband tussen ziek zijn en opbrengstverlies. De volgende 6 hoofdstukken houden zich bezig met de verschillende wijzen waarop ziekten ingrijpen in het normale leven van de plant, dus op de pathologische processen die plaats vinden. De redacteuren hebben hiermee willen breken met de indelingen die geheel of grotendeels op symptomen berusten. Hoe loffelijk dit streven ook is, men kan zich niet aan de indruk onttrekken dat ook deze indeling, waarbij 6 pathologische processen betrokken zijn, veel kunstmatigs heeft. Veelal zullen bij een ziekte verscheidene of alle pathologische processen naast of na elkaar werkzaam zijn. De genoemde processen – tevens de titels van de hoofdstukken 5 t/m 10 – zijn: het weefsel wordt vernietigd; de groei wordt beïnvloed; de reproduktie wordt beïnvloed; de gastheer verhongert; de gastheer lijdt aan watergebrek en het ademhalingspatroon van de zieke plant is gewijzigd. De overige hoofdstukken behandelen 11, histologie van de afweer in de plant; 12, fysiologie en biochemie van de afweer; 13, overgevoeligheid; 14, predispositie en 15, therapie. De hoofdstukken 12 en 13, resp. van de hand van P. J. ALLEN en K. O. MÜLLER, die ik wat nader bestudeerde, geven m.i. een uitstekend inzicht in de stand van onze kennis tot op dit ogenblik.

In deel 2 wordt de ziekteverwekker, het pathogeen, behandeld. Na de inleiding geeft hoofdstuk 2 een overzicht over de aard, het ontstaan en de evolutie van het parasitisme. De overige hoofdstukken handelen over – wat HORSFALL en DIMOND als pendant van parasitisme – pathogenisme noemen. De verdere stof is verdeeld in 3 onderdelen: de reproduktie van pathogenen, de aard van de pathogeniteit en de remming van pathogenen. Hoofdstukken 3 en 4 behandelen de reproduktie van virussen resp. bacteriën en fungi, terwijl 5 gaat over de sporenkieming. Dit hoofdstuk is opgenomen in verband met het grote belang van de sporenkieming voor de fytopathologie. Over de aard van de pathogeniteit handelen 6 hoofdstukken, nl. 6 en 7 over het mechanische resp. chemische vermogen van het pathogeen om de weerstand van de gastheer te breken. Deze hoofdstukken vormen de tegenhanger van de hoofdstukken 11 en 12 van deel 1, waar de afweer van de zijde van de plant wordt behandeld. De verdere hoofdstukken hebben

betrekking op 8, bodempathogenen; 9, toxinen; 10, heterokaryose en saltatie en 11, erfelijkheid van de pathogeniteit. Tenslotte wordt de remming van pathogenen in de laatste vier hoofdstukken besproken. Het zijn 12, inactivering van virussen; 13, fysiologie van de fungitoxiciteit; 14, chemie van fungiciden; 15, nematociden.

Deel 3 is gericht op de zieke populatie, op epidemieën en bestrijding. GARRETT bespreekt in hoofdstuk 2 het begrip inoculum-potentiaal, dat door hem in een beperktere zin wordt gebruikt dan door HORSFALL en DIMOND in hun inleiding. Aan de verspreiding van het inoculum zijn 4 hoofdstukken gewijd, nl. 3, autonome verspreiding; 4 verspreiding door insekten en andere dieren met inbegrip van de mens; 5, verspreiding door lucht en water – de start en 6, idem – de vlucht en de landing. Dit zesde hoofdstuk – geschreven door H. SCHRÖDTER – geeft een zeer fundamentele beschouwing over de factoren die vlucht en landing van sporen of andere deeltjes bepalen. Een even voortreffelijk beeld geeft VAN DE PLANK over het ontstaan van epidemieën in hoofdstuk 7, terwijl 8 handelt over het voorspellen van epidemieën. In de laatste 6 hoofdstukken wordt de bestrijding van planteziekten besproken. Daarbij is de volgende indeling gevolgd: hoofdstuk 9, quarantaine-maatregelen; 10, cultuurmaatregelen; 11, grondontsmetting; 12, fungiciden; 13, biologische bestrijding en 14, kweken van resistente rassen.

De uitvoering van deze uitgave is voortreffelijk. Elk hoofdstuk wordt met een literatuurlijst besloten. In elk deel is een auteursindex opgenomen, die verwijst naar de plaats waar deze in de tekst èn in de literatuurlijst worden vermeld, en verder een uitvoerige onderwerpen-index, waarin ook de gastheren en de ziekteverwekkers zijn opgenomen. Het boek zal voor de meesten onzer te kostbaar zijn om aan te schaffen; om zowel onderzoekers als gevorderde studenten in staat te stellen de inhoud te bestuderen dient het m.i. in de fytopathologische bibliotheken in enige exemplaren aanwezig te zijn.

O.

Handbuch der Pflanzenkrankheiten, Bd. V. Lieferung 5, Vertebrata, bearbeitet von Dr. M. K. KLEMM und Dr. K. MANSFELD, herausgegeben von Prof. Dr. Dr. h.c. H. BLUNCK, Verlag Paul Parey, 1958, blz. I–XI, en 1–402; 134 abf. Prijs D.M. 88,–.

In dit deel, dat Band V: Tierische Schädlinge an Nutzpflanzen, Deel 2, afsluit, heeft Dr. KLEMM de reptielen en zoogdieren en Dr. MANSFELD de vogels bewerkt. In zijn voorrede zegt Prof. BLUNCK terecht, dat sedert het verschijnen van de 4e druk, nu 28 jaar gelegen, onze kennis zich zó vermeerderd heeft, dat van de meeste hoofdstukken een geheel nieuwe bewerking nodig was. Zeker houdt dit ook verband met onze sterk toegenomen kennis inzake afweer- en bestrijdingsmogelijkheden.

Het zal de lezer niet verbazen, dat slechts zeven bladzijden zijn gewijd aan de bespreking der plantenetende reptielen, waarvan immers slechts enkele Lacertilia en Chelonia voor behandeling in aanmerking komen. Veel belangrijker zijn daarentegen de vogels (153 blz.) en nòg belangrijker de zoogdieren (205 blz.). In het boek vindt de lezer van vele diersoorten uitvoerige gegevens omtrent het menu dat zij tot zich nemen. Maagonderzoek, voedselproeven en veldwaarnemingen leverden hiervoor de gegevens. Bij de zoogdieren worden van de belangrijkste soorten ook nog de nodige gevens vermeld omtrent hun levenswijze en biologie. In sommige gevallen zijn determinatietabellen opgenomen, die leiden tot de subfamilies, het geslacht of de soort. De tekst is verlucht met een aanzienlijk aantal fraaie afbeeldingen. Bij het lezen krijgt men soms de indruk, dat de stof zó perfectionistisch is behandeld, dat nauwelijks enig organisme, dat zich aan een plant, vrucht of zaad kan vergrijpen, vergeten kan zijn.

H. J. DE FLUITER

Mycological Papers of the Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey.

In deze afzonderlijk verkrijgbare publikaties worden vooral systematische gegevens verzameld over schimmels, die in vele gevallen ook voor de fytopatholoog van belang zijn. Verder worden lijsten van in bepaalde landen of streken gevonden schimmels gepubliceerd.

No. 70 en 72. M. B. ELLIS, *Clasterosporium* and some allied Dematiaceae-Phragmosporae I en II, 89 en 75 blz. (1958 en 1959); prijs 30 en 35 s.

In deze twee rijk geïllustreerde publikaties wordt een nieuwe indeling gegeven van een aantal tot de Hyphomycetes behorende schimmels met meestal donkere en veelvuldig dwars gesepteerde conidiën. In het eerste deel worden de geslachten *Clasterosporium*, *Ceratophorum*, *Sporidesmium* en *Annelophora* besproken. De tot het geslacht *Clasterosporium* behorende soorten onderscheiden zich door een op de waardplant oppervlakkig groeiend mycelium met hyphopodiën (appressoriën aan hyphae). Als *Sporidesmium* worden meer dan 50 gedeeltelijk nieuwe, gedeeltelijk tot op heden in het geslacht *Clasterosporium* ondergebracht soorten beschreven. De meesten zijn saprofyten en groeien op hout of op dode stengels.

In het tweede deel wordt vooral het geslacht *Stigmina* behandeld. Talrijke van de hier ondergebrachte soorten veroorzaken bladvlekken en vormen in het plantenweefsel kleine stromata, die aan de oppervlakte dicht met conidiëndragers bezet zijn. De tot nu toe vooral onder de namen *Clasterosporium carpophilum* (Lév.) Aderh. en *Coryneum Beyerinckii* Oudem. bekende verwekker van de hagelschotziekte bij steenvruchten wordt als *Stigmina carpophila* (Lév.) M. B. Ellis beschreven.

No. 71. F. C. Deighton, Studies on *Cercospora* and allied genera I, 23 blz. (1959); prijs 9 s.

De auteur behandelt *Cercospora*-species, die parasiteren op bladeren van *Phyllantus*-soorten (tropische Euphorbiaceae). Hij onderscheidt zes species, van wie vier als nieuw worden beschreven.

No. 73. C. Booth, Studies of Pyrenomycetes IV: *Nectria* (Part 1), 115 blz. (1959); prijs 30 s.

Deze publikatie is een waardevolle studie met goede beschrijvingen en afbeeldingen van de in Engeland bekende *Nectria*'s. De auteur onderscheidt verschillende groepen van nauw verwante soorten en brengt deze in twee hoofdgroepen onder: bij de ene ontwikkelen zich de peritheciën op een stroma, bij de andere groep ontbreekt een stroma. Er zijn goede determineertabellen voor de verschillende groepen en soorten opgesteld. Van iedere soort worden de ascus- en de conidiënvorm, voorzover die bekend is, besproken, evenals de kenmerken in reincultuur. De meeste als oorzaak van boomkankers bekende soorten zoals *Nectria cinnabarina* (Pers.) Fr., *Nectria galligena* Bres. en *Nectria ditissima* Tul. worden onder deze namen uitvoerig besproken. De tot op heden als *Nectria cucurbitula* sensu Fuckel (non *Nectria cucurbitula* (Tode) Fr. = *Scoleconectria cucurbitula* (Tode ex Fr.) Booth) van Coniferen bekende schimmel wordt onder de naam *Nectria Fuckeliana* Booth opnieuw beschreven. De conidiënvormen van *Nectria* behoren tot verschillende genera van de Fungi imperfecti, b.v. tot *Phialophora*, *Zythia (Zythiostroma)*, *Cephalosporium*, *Gliocladium*, *Verticillium*, *Acrostalagmus*, *Cylindrocarpon* en *Fusarium*.

v. A.